IMPERIAL AGRICULTURAL
RESEARCH INSTITUTE, NEW DELHI.

16110/36

Zentralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Begründet von Oskar Uhlworm

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftliche, technische, Nahrungsmittel-Bakteriologie und Mykologie (einschließlich der Gärungsphysiologie und Enzymologie), Protozoologie, Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, sowie Tierkrankheiten (ausschließlich der in das Gebiet der Medizin gehörenden)

herausgegeben von

Oberregierungsrat Dr. C. Stapp
Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19

90. Band

Mit 86 Abbildungen im Text und 4 Tafeln

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1934

Alle Rechte vorbehalten
Printed in Germany

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 90. No. 1/4.
Ausgegeben am 27. April 1934.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die krankheitserregende Wirkung des Bac. orpheus bei der Bienenbrut.

[Aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem; Laboratorium zur Erforschung und Bekämpfung der Bienenkrankheiten.]

Von **A. Borchert.**

Nur verhältnismäßig selten ist bisher der Bac. orpheus Gegenstand eingehender Betrachtungen gewesen.

In Amerika hat White (1) bei der sog. „Gutartigen (Europäischen) Faulbrut" den Bac. orpheus angetroffen, hält ihn aber nicht für krankheitserregend bei der Bienenbrut. Mc. Cray (2) betrachtet den Bac. orpheus als einen gelegentlichen sekundären Eindringling bei den von der sog. Gutartigen Faulbrut befallenen Bienenmaden; er gibt eine Beschreibung der Lebenseigentümlichkeiten dieses Mikroorganismus, der sich dadurch auszeichnet, daß die Stäbchen durch die seitenständig sich bildenden Sporen stark gekrummt werden. Laubach (3) hat eine dem Bac. orpheus stark ähnelnde, aus Wasser stammende Art eingehend beschrieben und ihr den Namen Bac. laterosporus gegeben. In der Schweiz begegnete Morgenthaler (4) dem Bac. orpheus erstmalig ebenfalls in einem Fall von sog. „Gutartiger Faulbrut".

In der Biologischen Reichsanstalt ist die in Frage stehende Bazillenart im Laufe der letzten Jahre gelegentlich der Untersuchung von Auskunftsmaterial, das aus Mecklenburg, Anhalt und Oberschlesien stammte, dreimal ermittelt worden und einmal in besonders großer Menge im Verlaufe eines Versuches in der Anstalt. In diesem Versuche waren 3 Versuchsvölkern zum Ausbauen mehrere Mittelwände zugehängt worden, denen eine Aluminiumverbindung zugesetzt worden war. Der erste auf den von den Bienen gut ausgezogenen Mittelwänden entstandene Brutgang starb jedoch in offenen und gedeckelten Zellen in starkem Maße ab. Die Untersuchung der toten Maden ließ eine Fülle der verschiedenartigsten Bazillen und Kokken erkennen, unter denen der Bac. orpheus in großer Menge vorhanden war. Auf diese Befunde, die zur Zeit noch nicht verarbeitet sind, wird später näher eingegangen werden.

Das Krankheitsbild, das die von Bac. orpheus durchsetzten Maden boten, war im allgemeinen folgendes: die Maden waren in frischen Fällen stark zersetzt, z. T. jauchig; in etwas älteren Fällen von schmieriger und noch später von trocken-knetbarer Beschaffenheit, wobei sie sich aber nicht krümelig auf[illegible]n durch Streptococcus apis befallenen [illegible]fläche war zuweilen unregelmäßig krustig. Wä[illegible]ben der Maden als kalkartig und durchbrechbar. [illegible]haut und -inneres

gleichermaßen ergriffen, wodurch sich das Krankheitsbild in frischen Fällen von dem der Sackbrut unterscheiden würde. Die Farbe wechselte zwischen hellgelb und dunkelbraun, ohne jedoch den dunkelbraunen Farbton anzunehmen, den wir durch den von Bac. larvae zersetzten Maden (Bösartige Faulbrut) zu sehen gewohnt sind. Geruch war niemals bemerkbar. Ein Unterschied im Aussehen und in der Beschaffenheit offener oder gedeckelter Maden bestand nicht. Die Zelldeckel wiesen mehrfach, ähnlich wie bei der „Bösartigen Faulbrut" und der Sackbrut, kleine Risse auf. Im allgemeinen ließen sich die Madenleichen leicht den Zellen entnehmen, nur selten hafteten sie den Zellrändern etwas fest an.

Zur Klärung der Rolle, die Bac. orpheus im Bienenvolk spielt, sind hier Ansteckungsversuche bei mehreren Völkern durchgeführt worden, deren Verlauf und Ergebnisse kurz wiedergegeben seien.

Zur Ansteckung der Bienenmaden, die auf dem Wege der unmittelbaren Verfütterung erfolgte und die Ammenbienen somit ausschaltete, fanden aus Krankheitsmaterial gezogene Reinkulturen von Bac. orpheus Verwendung in Stäbchen- und Sporenform; als Nährboden diente Vitam-Bact-Agar (Fabrik Biologischer Präparate in Hameln). In Zucker- oder Honigwasser angefertigte Aufschwemmungen wurden mit Hilfe eines Pinsels oder einer Pipette vorsichtig auf die Zellböden oder unmittelbar auf junge offene Brut übertragen.

Versuch I: 1931 (Volk Nr. 13).

15. 7.: 2 Sporen-Röhrchenkulturen; 23. und 28. 7.: je eine Stäbchen- und Sporen-Röhrchenkultur.

Am 30. 7.: 4 krankhaft erscheinende Maden; von denen in 2 Bac. orpheus färberisch und züchterisch nachgewiesen wird.

Versuch II: 1932.

27. 2.: von 4 mit Bac. orpheus durchsetzten Larvenresten sind Aufschwemmungen mit 3 ccm Wasser hergestellt worden, die in die offenen Zellen von 2 sauberen mehrfach bebrüteten Ganzwaben getropft wurden; in gleicher Weise sind 2 Waben mit Sporenaufschwemmungen behandelt; am 13. 5. sind die 4 Waben zwei einzelnstehenden Völkern in das Brutnest gehängt worden.

Eine Erkrankung der Brut wird nicht festgestellt.

Versuch III: 1933 (Völker Nr. 19, 33 und 34).

19. 6.: 1 Sporen-Röhrchenkultur auf (die Brut von) Wabe 1; 20. 6.: 2 Stäbchen-Röhrchenkulturen auf Wabe 2; 22., 26. und 28. 6.: 2, 3 und 3 Sporen-Plattenkulturen auf Wabe 3, 4 und 5.

Am 21. 6. zwei krankhaft erscheinende Maden, in denen Bac. orpheus färberisch und züchterisch nachgewiesen wird. Am 26. 6. vor dem Flugloch ein gelblicher und am 21. 7. ein brauner Madenrest in Wabe 1, in denen beiden Bac. orpheus färberisch und züchterisch nachgewiesen wird; am 26. 7. in Wabe 1: 3 und in Wabe 2: 4 tote Maden; in allen 7 wird Bac. orpheus färberisch und züchterisch nachgewiesen.

Am 26. 6. sind die 2 am 21. 6. und 26. 6. gefundenen Madenreste zwei Versuchsvölkern verabreicht worden: kein Ansteckungserfolg.

Versuch IV: 1933 (Volk Nr. 23).

3. 7.: 1 Sporen-Plattenkultur in etwa die Hälfte aller offenen Zellen einer Halbwabe auf beiden Seiten eingepinselt und am 5. 7. die Wabe einem Versuchsvolk in das Brutnest gehängt.

10. und 18. 8.: je 1 tote Made; in beiden wird Bac. orpheus färberisch und züchterisch nachgewiesen.

Was das Aussehen und die Beschaffenheit der von Bac orpheus durchsetzten, in den Ansteckungsversuchen ge-

wonnenen Maden anbetrifft, so war eine völlige Übereinstimmung mit den aus dem Auskunftsmaterial (s. o.) stammenden Maden festzustellen.

Keinem Zweifel kann es unterliegen, daß die in den Versuchen I, III und IV gewonnenen Befunde auf eine unmittelbare Einwirkung der verfütterten Orpheuskeime zurückzuführen ist. Wenn die Ausbeute entsprechend den großen Mengen der verfütterten Keime nur verhältnismäßig gering erscheint, so ist hierbei zu berücksichtigen, daß die Befunde nur einen Bruchteil der tatsächlich erkrankten Maden darstellen können, denn die Bienen reißen die Brut, die ihnen irgendwie verdächtig erscheint, bei Tag und bei Nacht aus den Zellen, um diese für eine neue Bestiftung möglichst schnell freizubekommen. Es ist also damit zu rechnen, daß in Wirklichkeit weitaus mehr Maden der Ansteckung zum Opfer gefallen waren. Außerdem ist es während des Sommers bei einer Durchmusterung der Waben eines Bienenvolkes trotz aller Sorgfalt nicht möglich, jeden verdächtigen Madenrest zu erfassen, besonders dann nicht, wenn er in einer geschlossenen Zelle liegen sollte, deren Deckel noch keine Veränderungen aufweist. Zudem eignet sich auch nicht jeder Tag zur Untersuchung, wodurch aber die Möglichkeit einer späteren Feststellung krankhafter Maden stark verringert wird. — Die bei der Verfütterung der von Bac. orpheus durchsetzten Maden erzielten Ergebnisse sind wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die Keime, die an sich nicht allzu zahlreich in den Maden vorhanden waren, zu einer offensichtlichen Erkrankung der Versuchsbrut nicht ausgereicht hatten. — Eine genauere Darstellung dieser Verhältnisse und eine eingehende Beschreibung der Lebenseigentümlichkeiten des Bac. orpheus erfolgt später.

Zusammenfassung.

Auf Grund der Ansteckungsversuche komme ich zu dem Schluß, daß dem Bac. orpheus eine krankheitserregende Wirkung bei der Brut der Honigbiene (Apis mellifica L.) zukommt.

Schrifttum.

1. White, G. F., European Foulbrood. U. S. Dep. of Agr. Bull. No. 810, Washington D. C., Febr. 1920. Profess. Paper. — 2. McCray, Spore forming Bacteria of the Apiary. (U. S. Dep. Agr. Journ. of Agr. Res. Vol. 8. p. 399—420.) — 3. Laubach, C. A. (Rice and Ford), Aerobic Spore — bearing non — pathogenic Bacteria. (Journ. of Bact. Vol. 1. 1916. Nr. 5.) — 4. Morgenthaler, O., Bienenkrankheiten im Jahre 1930. (Schweiz. Bienenztg. Jahrg. 1931. Nr. 5.)

Nachdruck verboten.

Parasitic and other Fusaria counted in Costa Rica and Panama soils.

By **Otto A. Reinking.**

Introduction.

In conducting a study of Fusarium oxysporum f. 3, the cause of banana wilt, a series of soil investigations were made in the following countries: Guatemala (Pacific Coast), Honduras, Costa Rica, Panama and Colombia. A detailed account of the original investigations in Honduras and Guatemala has been published (5). The Colombia soil isolations were made from soils collected for chemical analyses. While these soils were kept free from outside contamination and the isolations gave a good idea of the fusaria present, the counts of the fusaria cannot be directly compared with those found in the other soil studies. An account of the fusaria in Colombia soils has been given (6). The Costa Rica and Panama fusaria soil investigations were conducted in the field from a pathological standpoint and give a good representation of the common fusaria found in the surface soil.

The object of the present investigation was to determine the relative number and distribution of parasitic and other fusaria in various soil types encountered in the lowland banana regions of Costa Rica and Panama and to determine whether these fusaria were true soil organisms or merely soil invaders.

The studies were conducted from March to August 1932 in the lowland banana regions about Limon, Costa Rica and Almirante, Panama, Central America.

Materials and methods.

1. Description and Classification of Areas Sampled.

a) A general description and location of the twelve Costa Rica soil areas investigated is as follows:

1. Estrella Clay — 40—50%. These soils were from the Estrella region and are all alluvial deposits from the Estrella river. Three different areas were sampled varying from 40 to 50 percent in clay content. The pH of the soils determined in the field with Soiltex were 6.2—6.7 for two areas and 7.0 for the third. All areas were in bananas.

2. Bearesem Clay — 50%. The Bearesem clays investigated were all heavy and were alluvial deposits from the Banana river. Four soil areas were investigated. The pH of these soils as determined in the field with Soiltex was as follows: two soils 7.0, one soil 5.7—6.1 and the fourth soil 5.0—5.6. Two areas were in bananas and two were planted to cacao.

3. Good Hope Clay — 50%. The soil studied was a heavy reddish clay being an alluvial deposit from the Madre de Dios river. The area was planted to bananas and as determined in the field with Soiltex had a pH of 5.7—6.1. The banana planting was four years old and had a moderate disease infection.

4. Zent Clay — 30—35%. The Zent clays were derived from outwash and alluvial material from the adjacent hills and the Zent river. Four different areas were investigated, one was planted with bananas, the other three to cacao with scattered bananas. The pH determined with Soiltex varied from 5.0—5.6, 5.6—6.1, 6.2—6.7 to 6.8—7.0.

5. Barmouth Clay — 30—35%. The Barmouth clays were all alluvial deposits from the Matina river. Six different soil areas were studied, one was in cacao and three were planted to cacao with scattered bananas. The pH determined with Soiltex was 6.2—6.7 for one soil and 7.0 for all the rest.

6. Barmouth Clay — 50%. The heavy Barmouth clays were all alluvial deposits from the Matina river. Five different areas were investigated, two were planted with bananas, two with cacao and one with cacao and scattered bananas. One area had with Soiltex a pH of 5.7—6.1, another 6.8—7.0, and the rest tested 6.2—6.7.

7. Monte Verde Clay and Sand. The Monte Verde clay and sand area was an alluvial deposit from the Pacuare river. The area was comprised chiefly of coarse sand with a recent clay deposit of from two to four inches in places. Bananas with 100 percentage of wilt disease were present. The field test with Soiltex gave a pH of 7.0.

8. Monte Verde Clay — 35—45%. The Monte Verde clays studied were all alluvial deposits from the Pacuare river. Ten different soil areas were investigated, six were planted with bananas and four with cacao with occasional scattered bananas. The banana areas were over ten years old and had only scattered disease. The Soiltex test for pH gave the following results: six areas 5.7 to 6.1, two areas 6.2—6.7, one area 6.8—7.0 and one area 7.0.

9. Siquirres Fine Sandy Loam — The one area of Siquirres fine sandy loam examined was an alluvial deposit from the Siquirres river. It had a pH of 7.0 as determined in the field with Soiltex. The area was planted with cacao.

10. Monte Cristo Fine Sand — The one area of Monte Cristo fine sand tested was an alluvial deposit from the Reventazon river. The pH as determined in the field with Soiltex was 7.0. The area was planted with bananas and had 100 percent disease.

11. Monte Cristo Clay Loam — The Monte Cristo clay loam was an alluvial deposit from the Reventazon river. Three different areas were sampled, two of these were in bananas and one was planted to cacao with scattered bananas. The banana areas were over ten years old and had only scattered disease. The pH of all three was 7.0 as determined in the field with Soiltex.

12. Monte Cristo Clay — 30—40%. The Monte Cristo Clays were all alluvial deposits from the Reventazon river. Five areas were sampled, two of these were planted with bananas, one with cacao and two with cacao and scattered bananas. The areas in bananas were over ten years old and had a medium severe disease infection. The pH of these areas as determined with Soiltex was 6.8—7.0.

b) The description and location of the eight Panama soil areas investigated is as follows.

1. Changuinola Fine Sandy Loam. The Changuinola fine sandy loam soil was an alluvial deposit derived from the overflow of the Changuinola river. Two areas were examined in this region, one being planted to bananas and cacao and the other to cacao. The pH of the soils as determined in the field with Soiltex were 5.0—5.6.

2. Changuinola Very Fine Sandy Loam. The Changuinola very fine sandy loam was an alluvial deposit from the Changuinola river. Two areas were examined, one being planted to bananas and cacao and the other to cacao. The pH for the soil in these areas as determined in the field with Soiltex was 5.0—5.6.

3. Changuinola Clay — 30—35%. The Changuinola clay, 30—35%, was an alluvial deposit from the Changuinola river. Two areas were examined, one being in bananas and the other in cacao. The pH of the soil in these areas as determined in the field with Soiltex was 5.7 and 5.0—5.6 respectively.

4. Changuinola Clay — 45%. The Changuinola clay, 45%, was an alluvial deposit from the Changuinola river. One area in bananas was examined. The pH of the soil in this area as determined in the field with Soiltex was 5.7—6.1.

5. Sixaola Very Fine Sandy Loam. The Sixaola very fine sandy loam was a deposit from the Sixaola river. Two areas were examined, one being in bananas and cacao, the other in cacao. The pH of the soil in this area as determined in the field with Soiltex was 5.0—5.6.

6. Sixaola Clay — 35%. The Sixaola clay, 35%, was a deposit from the Sixaola river. One area planted to cacao was examined. The pH of the soil as determined in the field with Soiltex was 5.7—6.1.

7. Sixaola Clay — 45%. The Sixaola clay, 45%, was a deposit from the Sixaola river. Three areas were examined, two being in bananas and one in cacao. The pH of the soil as determined in the field with Soiltex was 5.0—5.6.

8. Sixaola Clay — 50—55%. The Sixaola clay, 50—55%, was a deposit from the Sixaola river. Five areas of soil were examined, four of which were planted to bananas and cacao, and one of which was planted to cacao. The pH of the soil as determined in the field with Soiltex was 5.0—5.6.

2. Method of Sampling.

All samples collected for fungous isolations were put into sterilized paper sacks and taken to the laboratory where they were plated out the same day. Only surface samples, consisting of a representative sample of the first one-half to one inch of soil, were collected and investigated. Each area sampled was first prepared by removing all dead plant material or grass and other weeds if present. Then an area, around the banana plant or cacao tree, containing some twenty square feet was laid out and subdivided into five squares, each containing four square feet. Each one of these five squares were sampled separately by carefully scraping the top soil of the entire surface, with a sterilized spoon, into a pile in the center of the square. This soil was carefully mixed and a representative sample placed into sterile paper sacks. In this manner five samples were taken from the twenty square feet sampled in each representative area, and five separate platings were made for fungous counts.

3. Method of Plating.

Throughout the work the dilution method was used on the basis of 0.2 grams of soil per cubic centimeter, giving a dilution of 1/50. The method used was to weigh a two-gram sample on a sterile piece of paper and then to transfer the soil to a one hundred cubic centimeter sterile water blank containing about a teaspoonful of glass beads. In making the dilution, the bottle containing the soil was quickly agitated by hand for some five minutes and then one cubic centimeter of the solution was drawn off with a sterile pipette and plated out directly by dividing equally between four or six sterile petri dishes. Generally four plates were used in plating out the heavy soil samples and six were used when plating out the lighter textured soils as it was found that the fusaria could be readily isolated in this manner. A total of the fusaria isolated from the four or six plates times the dilution gave the count per gram of soil. By plating out one centimeter of the above solution in four or six plates, the fungi were actually grown at a greater dilution than 1/50. This gave the advantage of using the low original dilution, yet at the same time giving plates not too crowded. Plates were kept at room temperature for three to four days and then all fusaria were isolated and purified for identification. The numbers of fungi determined in all soil types were calculated on the basis of the moist soils as collected with a moisture content ranging from 10 to 30%.

4. Media Used.

The media used in the investigation was potato dextrose agar similar to that employed in former fusaria soil isolation investigations (5, 6).

Investigations and results.

1. Fusaria Isolated.

Fifteen different fusaria, included in nine different Fusarium sections, were isolated from the various Costa Rica soil types. Twenty-one different fusaria, included in eleven different Fusarium sections, were isolated from the various Panama soils. The range of fusaria isolated in the Panama soils was greater than that found in the other Caribbean regions (2, 4, 5, 6, 7). It cannot be stated that this is characteristic for Panama alone, as undoubtedly the same fungi occur in all regions. It possibly happe-

ned that a somewhat different soil flora was present in the spots from which isolations were conducted in Panama. Undoubtedly other fusaria than those isolated are present in the Caribbean soils, but it is believed that the most common ones were encountered in these series of isolations. Table 1 gives the systematic arrangement of the fusaria. Identifications were made in Costa Rica and Panama from freshly isolated cultures. Type cultures, however, were verified by the writer by comparison and study with cultures in the mycological laboratories of the Biologische Reichsanstalt, Berlin-Dahlem, Germany[1]). The systematic arrangement and nomenclature of the Fusarium types listed is according to the revised classification by W o l l e n w e b e r (10). Earlier investigations were found helpful in these classification studies (1, 4, 8, 9).

Table 1. — Systematic arrangement of Fusaria isolated.

F u s a r i u m.

1. E u p i o n n o t e s
   Chlamydospora
      Fusarium dimerum (Costa Rica and Panama)
2. M a c r o c o n i a
   Fusarium sublunatum (Costa Rica and Panama)
3. S p i c a r i o i d e s
   Fusarium decemcellulare (Costa Rica and Panama)
7. S p o r o t r i c h i e l l a
   Fusarium chlamydosporum (Costa Rica and Panama)
9. A r t h r o s p o r i e l l a
   Fusarium semitectum (Panama)
   Fusarium semitectum var. majus (Panama)
10. G i b b o s u m
   Fusarium equiseti var. bullatum (Costa Rica and Panama)
   Fusarium scirpi (Costa Rica)
   Fusarium scirpi var. caudatum (Panama)
11. D i s c o l o r
   Fusarium graminearum (Gibberella saubinetii) (Panama)
   Fusarium sambucinum f. 1 (Panama)
   Fusarium sambucinum f. 3 (Panama)
12. L a t e r i t i u m
   Fusarium lateritium var. longum f. 1 (Costa Rica and Panama)
13. L i s e o l a
   Fusarium moniliforme (Costa Rica and Panama)
   Fusarium moniliforme var. maius (Panama)
14. E l e g a n s
   Constrictum
      Fusarium bulbigenum (Costa Rica)
   Oxysporum
      Fusarium oxysporum f. 3 (Costa Rica and Panama)
      Fusarium oxysporum f. 5 (Costa Rica and Panama)
      Fusarium vasinfectum var. zonatum f. 3 (Costa Rica)
15. M a r t i e l l a
   Fusarium solani var. minus (Panama)
   Fusarium solani var. martii f. 1 (Costa Rica and Panama)
   Fusarium solani var. eumartii (Costa Rica and Panama)
   Fusarium javanicum (Panama)
   Fusarium javanicum var. theobromae (Hypomyces ipomoeae) (Costa Rica and Panama)

[1]) The writer is indebted to Dr. H. W. W o l l e n w e b e r for providing facilities and for valuable assistance in these studies.

Table 2. Average number of Fusaria

Name of Organism	Estrella C—40—50%	Bearesem C + 50%	Good Hope C + 50%	Zent C—30—35%
F. dimerum	—	50 to 100	—	50 to 200
F. sublunatum	50 to 100	400 to 1550	—	100 to 500
F. decemcellulare	—	50 to 100	—	50
F. chlamydosporum	—	—	—	—
F. equiseti var. bullatum	200 to 1600	50 to 1450	50	50 to 500
F. scirpi	—	—	—	—
F. lateritium var. longum f. 1	—	50	—	50 to 100
F. moniliforme	50	50 to 100	50	50
F. bulbigenum	250	50	—	—
F. oxysporum f. 3	20 to 330	33 to 60	10	13 to 1167
F. oxysporum f. 5	20 to 790	30 to 780	100	13 to 166
F. vasinfectum var. zonatum f. 3	—	—	—	—
F. solani var. martii f. 1	2780/5160	820/6260	2100	375/2450
F. solani var. eumartii	—	50	100	—
F. javanicum var. theobromae	400	50 to 950	—	50 to 150

2. Relative number and distribution of fusaria in type soils investigated.

Table 2 gives the average number of fusaria per gram of surface soil isolated from the twelve different Costa Rica soil types, and Table 3 the same from the eight different Panama soil types. The relative number and distribution of the fusaria isolated from the Costa Rica and Panama soils are very much the same as those found in Guatemala and Honduras (5). A few different fusaria were isolated from the Costa Rica and Panama soils. This probably is due to the difference in soil flora as will be more fully discussed later. The following organisms were found to be most generally wide spread:

F. dimerum was isolated from seven out of the twelve different soil types in Costa Rica and then at the rate of 50 to 250 per gram. It was isolated less frequently in the Panama soils. Since F. dimerum is a slow growing organism, it might well have been that some of the fungi were overlooked in the isolations since the studies were made primarily from an Elegans distribution standpoint. From these isolations, nevertheless, it can be seen that F. dimerum has a wide distribution in various soil types.

F. sublunatum, which is a new species (7), was isolated from eight out of twelve Costa Rica soil types, and from three out of eight Panama soil types. This organism was not found in Honduras, Guatemala or Colombia soils (5, 6) and undoubtedly is present in the Costa Rica soils due to some local condition such as flora.

F. decemcellulare was more commonly isolated under the Costa Rica and Panama conditions as compared to the Honduras and Guatemala situation. It was only isolated once in the latter region while it was isolated from five out of twelve soil types in Costa Rica and from two out of eight in Panama. Some local factor must account for its presence.

F. equiseti var. bullatum was isolated from all of the Costa Rica soil types and then in numbers ranging from 50 up to 1600 per gram and from three of the Panama soil types. It is rather common in all soils

per Gram of Costa Rica surface soil.

Barmouth C—30—35%	Barmouth C + 50%	Monte Verde C + S	Monte Verde C—35—45%	Siquirres FSL	Monte Cristo FS	Monte Cristo CL	Monte Cristo C—30—40%
—	50	200	50	—	50	—	50 to 250
50	50 to 250	—	50	50	—	—	150 to 250
50 to 100	50 to 150	—	—	—	—	—	100
—	—	—	50	—	—	—	—
50 to 350	50 to 350	500	50 to 800	50	250	100to1250	150 to 250
50	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	50	100	—	—	50
50 to 100	50	450	50 to 150	50	400	100	50 to 200
—	100	—	50	—	—	50	100
70 to 938	25	1590	10 to 420	10	1600	200 to 570	40 to 710
10 to 363	85	30	10 to 640	2780	440	60 to 610	30 to 2290
—	—	—	—	—	—	—	50
1038/4038	1025/2213	6340	2030/10150	2780	6498	3010/3660	1800/7283
150	50 to 100	—	100	—	—	—	50
50 to 250	50 to 200	—	50 to 500	200	100	150	100 to 450

in banana culture as is indicated from the Honduras, Guatemala and Colombia studies (5, 6).

F. bulbigenum was isolated from six out of twelve Costa Rica soil types, but from no Panama soils. It has been found rather commonly in most all soils investigated in the tropics (4, 5, 6).

F. oxysporum f. 3 was isolated from all twelve Costa Rica soil types and from the soil of all areas in diseased bananas in Panama. Since these studies were conducted primarily from the standpoint of determining the presence or absence of this organism in the soil about diseased plants and in soils free from bananas, it is to be expected that it would be found in all soils with diseased bananas. Practically all soil types investigated had areas with diseased bananas thereby accounting for the widespread presence of F. oxysporum f. 3. As indicated by the counts, the largest number of organisms per gram of soil were found in the lighter textured soils.

F. oxysporum f. 5 was isolated from all twelve Costa Rica soil types and from four out of eight Panama soils. This organism has been found rather abundantly in all tropical soils investigated. In the Costa Rica soil it was found at the rate of from 13 to 2290 per gram of soil depending upon the soil type and in Panama at the rate of from 50 to 1190 per gram of soil.

F. solani var. martii f. 1 was the most common fusarium isolated. It was found in all Costa Rica and Panama soil types ranging from some 375 to 10,150 per gram of soil. It is present generally in every soil sample tested regardless of flora and is most certainly a distinct soil fungus (2, 4, 5, 6).

F. solani var. cumartii was present in six out of twelve Costa Rica soil types, but in only one Panama soil. It is evidently a rather common soil fusarium.

F. javanicum var. theobromae (Hypomyces ipomoeae) was isolated from ten out of twelve Costa Rica soil types, and from six out of eight Panama soils. It has been found commonly in all regions where isolations have been made. It was found at the rate of 50 to 950 per gram of soil, depending on soil type.

Table 3. Average number of Fusaria per Gram of Panama surface soil.

Name of Organism	Changui-nola FSL	Changui-nola VFSL	Changui-nola C—30—35%	Changui-nola C—45%	Sixaola VFSL	Sixaola C—35%	Sixaola C—45%	Sixaola C+50—55%
F. dimerum	—	—	—	50 to 200	—	—	50 to 200	—
F. sublunatum	100	100	—	—	—	—	50	—
F. decemcellulare	—	—	50	—	—	—	—	50
F. chlamydosporum	—	—	—	50	—	—	50	—
F. semitectum	—	—	—	—	50	—	—	—
F. semitectum var. majus	—	—	—	50	—	—	—	—
F. equiseti var. bullatum	—	200	350	—	—	—	100	—
F. scirpi var. caudatum	—	—	—	—	50	—	—	—
F. graminearum	—	—	—	—	—	—	200	—
F. sambucinum f. 1	—	—	—	—	—	—	100	—
F. sambucinum f. 3	—	—	—	—	—	—	—	50
F. lateritium var. longum f. 1	—	—	—	50	50	—	50	50
F. moniliforme	—	—	200	200	—	—	50	—
F. moniliforme var. maius	—	—	—	50	—	—	—	—
F. oxysporum f. 3	200	420	175	50	1070	—	50 to 150	50 to 120
F. oxysporum f. 5	—	—	50	1190	—	—	50 to 220	50
F. solani var. minus	—	—	—	—	200	—	—	—
F. solani var. martii f. 1	1960 to 3740	1980 to 2510	2688—3025	5700	2120 to 3840	3020	1530 to 2830	2100 to 4280
F. solani var. eumartii	—	—	—	—	—	—	50	—
F. javanicum	—	—	—	—	150	—	50	—
F. javanicum var. theobromae	250	50	100	—	50	—	700	200

3. Relation of fusaria to soil flora.

Since the main part of the fusaria soil isolations in the Caribbean region were made from the soil about banana plants, the question arises whether or not many of the fusaria isolated in reality do not have the banana as their host. In the Costa Rica and Panama isolations not only areas in bananas were tested, but areas in cacao free from bananas. The cacao plantings, however, had been made on old abandoned diseased banana lands, but in all instances were at least ten years old. Some areas in cacao had scattered diseased banana plants. Naturally some weeds occur in the banana and cacao plantings, but under the Costa Rica conditions the weeds were rather scanty due to heavy shade in both the banana and cacao. The banana and cacao, with their fallen leaves and trash, comprised the chief flora of the areas tested. The Panama areas in all instances were not so free from other vegetation. Frequently the areas in bananas alone had many weeds, and even other crops intermixed.

Table 4. Relation of soil Flora to the Number of Times each particular Fungus was isolated in Costa Rica.

Name of Organism	Bananas 19 Areas Sampled	Cacao 14 Areas Sampled	Bananas and Cacao 16 Areas Sampled	Coconuts 1 Area Sampled
	positive isolations			
F. dimerum	3	1	6	0
F. sublunatum	5	5	8	0
F. decemcellulare	0	4	6	0
F. chlamydosporum	0	0	1	0
F. equiseti var. bullatum	19	3	13	0
F. scirpi	0	0	1	0
F. lateritium var. longum f. 1	1	1	3	0
F. moniliforme	11	3	4	1
F. bulbigenum	5	0	2	0
F. oxysporum f. 3	19	2	11	0
F. oxysporum f. 5	19	6	9	1
F. vasinfectum var. zonatum f. 3	1	0	0	0
F. solani var. martii f. 1	19	13	16	1
F. solani var. eumartii	2	2	5	0
F. javanicum var. theobromae	10	7	11	1

Tables 4 and 5 give the relation of soil flora to the number of times each particular fungus was isolated in Costa Rica and Panama. Since many of the fungi listed were isolated only in small numbers no final conclusions can be drawn. The locations under which the following organisms were isolated may have a significant meaning.

F. decemcellulare was not isolated in Costa Rica from the banana or coconut areas but was isolated from 4 areas out of 14 in cacao and from 6 areas out of 16 in bananas and cacao. In Panama it was only isolated in cacao areas. There is an apparent correlation between the presence of the fungus and the cacao tree.

F. equiseti var. bullatum was isolated in Costa Rica from all 19 areas in bananas, from 13 out of 14 areas in bananas and cacao, from

only 3 out of 14 areas in cacao, and not at all from the coconut area. In Panama it was isolated only from areas in bananas. Apparently these isolations are rather significant indicating a relationship between the fungus and the banana.

Table 5. — Relation of soil Flora to the Number of Times each particular Fungus was isolated in Panama.

Name of Organism	Bananas 4 Areas Sampled	Cacao 7 Areas Sampled	Bananas and Cacao 7 Areas Sampled
	positive isolations		
F. dimerum	2	0	0
F. sublunatum	1	0	2
F. decemcellulare	0	0	2
F. chlamydosporum	2	0	0
F. semitectum	0	1	0
F. semitectum var. majus	1	0	0
F. equisetium var. bullatum	2	0	1
F. scirpi var. caudatum	0	0	1
F. graminearum	1	0	0
F. sambucinum f. 1	0	1	0
F. sambucinum f. 3	0	0	1
F. lateritium var. longum f. 1	2	1	1
F. moniliforme	3	1	0
F. moniliforme var. maius	1	0	0
F. oxysporum f. 3	4	0	7
F. oxysporum f. 5	4	0	1
F. solani var. minus	0	1	0
F. solani var. martii f. 1	4	7	7
F. solani var. eumartii	1	0	0
F. javanicum	1	1	0
F. javanicum var. theobromae	4	1	7

F. graminearum was isolated in Panama for the first time in the investigations carried out in the lowland Caribbean region. It was isolated from the soil about badly diseased bananas. A corn patch adjoined the bananas, and it may be that the corn in this particular case was the host. The organism is undoubtedly a distinct soil invader under the tropical conditions. The perfect stage Gibberella saubinetii was readily produced in cultures taken to Germany.

F. moniliforme was isolated in Costa Rica from 11 areas out of 19 in bananas, from 3 areas out of 14 in cacao, from 4 areas out of 16 in bananas and cacao and from the one area in coconuts. In Panama it was isolated from the banana and cacao areas. Its prevalence in all areas would indicate that it is a soil fungus or that it has many host plants. In prior studies it was isolated from a variety of host plants (2, 4).

F. oxysporum f. 3 was isolated in Costa Rica from all areas in bananas, from 2 out of 14 areas in cacao, from 11 areas out of 16 in bananas and cacao and not at all from the coconut area. In Panama it was isolated only in the soil about diseased bananas. The banana would be indicated as a distinct host. This fact always has been indicated in other studies (2, 3, 4, 5). It is interesting to note that the organism was isolated in Costa Rica from the soil in cacao plantations in 2 instances out of 14 tested. Both of these areas had been in diseased bananas some ten years previous.

F. oxysporum f. 5 was isolated in Costa Rica from all areas in bananas, from 6 out of 14 in cacao, from 9 out of 16 in bananas and cacao and from the coconut area. In Panama it was isolated from the banana and the banana and cacao areas. These isolations would lead one to believe that this organism is not dependent upon the hosts cited and that it is a distinct soil organism.

F. solani var. martii f. 1 was isolated in Costa Rica from all banana, banana and cacao and coconut areas tested and from 13 out of 14 cacao areas. In Panama it was isolated from all different areas. Since it has always been isolated in abundance (2, 4, 5, 6) it must be regarded as a distinct soil organism.

F. solani var. cumartii was isolated in Costa Rica from 2 out of 19 banana areas, 2 out of 14 cacao areas, 5 out of 16 banana and cacao areas and not at all from the coconut area. In Panama it was isolated only from the banana area. It apparently has no relationship to the hosts cited and is a soil fungus.

F. javanicum var. theobromae (Hypomyces ipomoeae) was isolated in Costa Rica from 10 out of 19 banana areas, 7 out of 14 cacao areas, 11 out of 16 banana and cacao areas and from the 1 coconut area. In Panama it was isolated from all of the different conditions. It apparently has no distinct relationship with the hosts cited and must be regarded as a soil organism.

4. Discussion of Results.

The fusaria soil isolation studies were conducted in the lowland banana region near Limon, Costa Rica and Almirante, Panama. Throughout this region the meteorological conditions are rather uniform with a rainfall of somewhat over 100 inches of rain during the year. Isolations were conducted from twelve different soil types in Costa Rica and from eight in Panama. Practically all soils were of alluvial formation being deposited by the various river systems in these regions. The soils tested ranged from fine sands to heavy clays with a clay content of over 50 percent. The pH of these soils varied from 5.0 to 7. No correlation studies were made between the soil texture or pH and the number and distribution of fungi isolated. A variety of soil and soil flora conditions, however, were present. These conditions were variable enough to give a better insight into the question of classification of the fungi into true soil organisms or into mere soil invaders.

Only surface soil isolations were made as it had been determined that the majority of the fusaria are present in the first one half to one inch of the soil under normal conditions (5). The poured plate method of isolation was used throughout. A soil dilution on the basis of 0.2 grams of soil per cubic centimeter, giving a dilution of 1/50, was used for pouring the plates. From four to six plates were poured with one cubic centimeter of the dilution, thereby giving plates not too crowded with fusaria for accurate isolation purposes. The fungi, therefore, were grown under conditions with a greater dilution than 1/50. Theoretically only those fungi in the soil when present at a rate of fifty or more to the gram were isolated. If fusaria were present in less numbers in the soil they may have been missed. In considering, in this report, the actual absence or presence of a particular fungus in the soil this factor of dilution must be taken into consideration. Acidified potato dextrose agar with a pH of 4.0 to 4.5 was used throughout. The use

of this agar inhibited bacteria growth and generally favored the fusaria. Acid agar may have inhibited the growth of some fusaria, possibly those present in the Eupionnotes and Macroconia sections.

Fifteen different fusaria, included in nine different Fusarium sections were isolated from the various Costa Rica soil types. The largest number of fusaria were isolated from the section Elegans that includes the wilt producing fungi. The next largest number was isolated from the Martiella section.

Twenty-one different fusaria, included in eleven different Fusarium sections were isolated from the various Panama soil types. Some of these organisms were isolated for the first time from these banana regions. The majority of the forms isolated are not merely confined to the tropics, but are generally world wide in their distribution.

In the identification of fusaria it is believed that this can best be accomplished from freshly isolated cultures. All identifications were made in a field laboratory in Costa Rica and Panama from the originally isolated cultures. Type cultures, however, were verified by the writer at the Biologische Reichsanstalt in Berlin-Dahlem, Germany.

In classifying the fusaria isolated according to their relative number and distribution in the various soil types it was found that certain fungi were commonly found in all soil types and that others were found only in some soil types. The following fungi were found to be present in most soils investigated and in the largest numbers: F. equiseti var. bullatum, F. moniliforme, F. oxysporum f. 3, F. oxysporum f. 5, F. solani var. martii f. 1, and F. javanicum var. theobromae (Hypomyces ipomoeae). In similar studies conducted in Honduras, Guatemala and Colombia (5, 6), these fungi were present also in the largest number and had the widest distribution. The majority of the other fungi listed were found only rarely or in less numbers in a few of the soil types. These differences found in the numbers and distribution of the various fungi in the different soil types along with the factors of soil flora or presence of the host plant for certain fusaria make it possible to formulate a tentative classification of the various fusaria into two classes: true soil fungi and soil invaders.

In a report on studies conducted in Honduras and Guatemala and in Colombia a tentative classification of the fusaria isolated was given (5, 6). The factor of soil flora, however, was not specifically taken into consideration. Since the main part of the fusaria soil isolations were made from the soil about banana plants, the question arose, whether or not many of the fusaria isolated in reality do not have the banana as their host. In the Costa Rica and Panama isolations not only areas in bananas were investigated, but areas in cacao free from bananas. The areas in cacao, had been, some ten years or more previous, in diseased bananas. While some weeds were present in the banana and cacao plantings in Costa Rica they were scanty due to extreme shade. The bananas and cacao, with their fallen leaves and trash, comprised the chief flora of the areas tested. In Panama more weeds were generally present. The following fungi grew in abundance under all different conditions investigated: F. moniliforme, F. oxysporum f. 5, F. solani var. martii f. 1, F. solani var. eumartii and F. javanicum var. theobromae.

It is interesting to note that while F. decemcellulare was isolated only once in the Honduras, Guatemala and Colombia studies (5, 6), the areas of which were free from cacao plantings, it was frequently isolated from the cacao areas in Costa Rica and Panama. The fungus was originally described from cacao (9) and former isolations in Panama were from cacao (4). It, however, has been reported from a variety of hosts (9). The fact that the fungus could be readily isolated in cacao plantations and rarely under the other circumstances tested would indicate that under the Caribbean region conditions it prefers the cacao as host. The fungus, therefore, cannot be regarded as a distinct soil organism, but merely as a soil invader.

In former studies (4) F. equiseti var. bullatum was isolated from dead floral parts of the banana and from the soil. It is universally present on the dead floral parts at the tip of the banana fruit and is commonly present on other decaying floral parts of the banana on the ground. The Honduras and Guatemala investigation (5) as well as the Colombia investigation (6) indicated its common occurrence in banana soils. In the Guatemala investigations (5), however, it was found in abundance in the area sampled that was free from bananas. The Costa Rica and Panama investigations, in which the fungus was found to be more commonly associated with the banana, would lead one to question whether or not this fungus is a true soil organism even though it was found in one instance in abundance in the Guatemala region free from bananas. It might be better to regard this fungus provisionally as a soil invader, instead of a real soil fungus.

F. oxysporum f. 3, the determined cause of banana wilt, has been definitely shown to be a soil invader. These studies were reported on in the Honduras and Guatemala and Colombia investigations (5, 6). In the present investigations it was isolated from the soil in Costa Rica in two cacao areas free from bananas. These areas had been in diseased bananas some ten years previous. The fact, however, that this organism was rarely isolated in the soil in the absence of its diseased host indicates that it is dependent upon its host plant for its best development. All fourteen areas sampled in cacao plantings in Costa Rica had been previously in diseased bananas. In Panama it never was isolated from areas free from bananas, even though in every instance those areas planted to cacao had been some ten years previously in diseased bananas. It must be remembered, however, that all isolations were made with the dilution method, with a soil dilution of 1 to 50. The organism, therefore, may have been present in the soils in very low numbers of less than 50 to the gram. In one instance, in the Sixaola very fine sandy loam area, isolations were conducted from old diseased banana soil, that had been planted with cacao for at least ten years, by plating out soil samples directly without dilutions. In this instance no F. oxysporum f. 3 was isolated. Judging from the studies made throughout the Caribbean regions, it is believed that this fungus generally gradually disappears from old diseased soils after the host plant has been entirely removed for a period of years. In certain soils apparently it is still present, but in greatly reduced numbers as was found to be the case in the Costa Rica isolations. F. oxysporum f. 3 was found to be present in the Costa Rica and Panama soils about diseased plants at the rate of from 20 to 1590 per gram of soil. The largest numbers were always encountered in the lighter textured soils. The present investigations would indicate that fungi classed as soil invaders are dependent upon the host for their continued existence

in the soil. Once the host plant or host plants are removed the fungus probably gradually dies out in the soil.

Because of their widespread presence in the various soil types regardless of the soil flora as investigated, the following fungi have been classified provisionally as soil fungi: F. dimerum, F. moniliforme, F. bulbigenum, F. oxysporum f. 5, F. solani var. martii f. 1, F. solani var. eumartii and F. javanicum var. theobromae (Hypomyces ipomoeae).

The soil isolation studies would indicate that the following organisms are soil invaders: F. sublunatum, F. decemcellulare, F. chlamydosporum, F. semitectum, F. semitectum var. majus, F. scirpi, F. scirpi var. caudatum, F. graminearum, F. sambucinum f. 1, F. sambucinum f. 3, F. lateritium var. longum f. 1, F. moniliforme var. maius, F. oxysporum f. 3, F. vasinfectum var. zonatum f. 3, F. solani var. minus and F. javanicum.

The isolations would indicate that F. equiseti var. bullatum, that previously has been classed as a soil fungus, should be placed at least tentatively in the soil invader class. These investigations clearly show the necessity of a detailed knowledge of the habitat of a particular fungus before it can be definitely placed into one of the two above classes.

5. Summary and Conclusions.

1. The fusaria soil isolations were conducted in the lowland banana regions near Limon, Costa Rica and Almirante, Panama, Central America.

2. Isolations were conducted in Costa Rica from twelve different alluvial soil types planted to bananas or cacao and in one instance to coconuts. In Panama isolations were made from eight different alluvial soil types planted to bananas and cacao.

3. Only surface soil isolations were made using the soil dilution plate method with acidified potato dextrose agar having a pH of 4.0 to 4.5.

4. Fifteen different fusaria included in nine different Fusarium sections were isolated from the various Costa Rica soil types. Twenty one different fusaria included in eleven different Fusarium sections were isolated from the various Panama soil types.

5. All fusaria were identified from the newly isolated cultures in Costa Rica and Panama, but type cultures were verified by the writer at the Biologische Reichsanstalt in Berlin-Dahlem, Germany.

6. The differences found in the number and distribution of the various fungi in the different soil types along with the factors of soil flora or presence of the known host for certain fusaria made it possible to formulate a tentative classification of the various fusaria into two classes: True soil fungi and soil invaders.

7. The present investigation would indicate that certain fungi classed as soil invaders are dependent upon the host for their continued existence in the soil. Once the host plant or host plants have been removed the fungus probably gradually dies out in the soil.

8. The investigations clearly show the necessity of a detailed knowledge of the habitat of a particular fungus before it can be placed definitely into one of the two classes.

9. From the results of the investigation, the following fungi have been classed tentatively as soil fungi: F. dimerum, F. moniliforme, F. bulbigenum, F. oxysporum f. 5, F. solani var. martii f. 1, F. solani var. eumartii and F. javanicum var. theobromae (Hypomyces ipomoeae).

10. From the results of the investigation the following fungi have been classed tentatively as soil invaders: F. sublunatum, F. decemcellulare, F. chlamydosporum, F. semitectum, F. semitectum var. majus, F. scirpi, F. scirpi var. caudatum, F. graminearum, F. sambucinum f. 1, F. sambucinum f. 3, F. lateritium var. longum f. 1, F. moniliforme var. maius, F. oxysporum f. 3, F. vasinfectum var. zonatum f. 3, F. solani var. minus, and F. javanicum.

11. The isolations would indicate that F. equiseti var. bullatum, that has been classed previously as a soil fungus, should be placed at least tentatively in the soil invader class.

Literature cited.

1. Appel, O., and Wollenweber, H. W., Grundlagen einer Monographie der Gattung Fusarium (Link). (Arb. Biol. Reichsanst. Land- u. Forstw. H. 1, 8. 1910. S. 1—107.) — 2. Hansford, C. G., The fusaria of Jamaica. (Kew. Bul. Misc. Inf. 1926.) — 3. Reinking, O. A., Fusaria inoculation experiments. (Phytopath. Vol. 16. 1926. p. 371—392.) — 4. Reinking, O. A., and Wollenweber, H. W., Tropical fusaria. (Philippine Journ. Sci. Vol. 32. 1927. p. 103—253.) — 5. Reinking, Otto A., and Manns, Marshall M., Parasitic and other fusaria counted in Tropical Soils. (Ztschr. f. Parasitenkd. Bd. 6. 1933. S. 23—75.) — 6. Reinking, Otto A., and Manns, Marshall M., Parasitic and other fusaria counted in Colombia soils. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 89. 1934. S. 502—509.) — 7. Reinking, Otto A., Interesting new fusaria. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 89. 1934. S. 509—514.) — 8. Wollenweber, H. W., and Reinking, O. A., Aliquot fusaria tropicalia nova vel revisa. (Phytopath. Vol. 15. 1925. p. 155—169.) — 9. Wollenweber, H. W., Shorbakoff, C. D., Reinking, O. A., Johann, H., and Bailey, A. A., Fundamentals for taxonomic studies of fusaria. (Journ. Agr. Res. Vol. 30. 1925. p. 837—843.) — 10. Wollenweber, H. W., Fusaria-Monographie. Fungi parasitici et saprophytici. (Ztschr. f. Parasitenkd. Bd. 3. 1931. S. 269—516.)

Nachdruck verboten.

Die milchsaure Gärung bei Temperaturen unter der minimalen Entwicklungstemperatur der Milchsäurebakterien.

[Aus dem Moskauer Laboratorium des Instituts für landwirtschaftliche Mikrobiologie.]

Von **E. W. Runow.**

Die Frage der milchsauren Gärung bei Temperaturen unter der minimalen Entwicklungstemperatur der Milchsäurebakterien bietet ohne Zweifel ein praktisches Interesse auf dem Gebiete des Molkereiwesens. Auf die erwähnte Erscheinung stießen wir bei dem Studium der Kumysbereitung[1]).

[1]) Anläßlich einer in den Jahren 1929—1931 erfolgten Expedition zum Studium des Kumys, die vom Institut für Kurortologie des Kommissariats für Volksgesundheit organisiert wurde, Leiter der bakteriologischen Gruppe war Prof. A. F. Wojtkiewicz.

Bekanntlich wird der Kumys (gegorene Stutenmilch) nach der Bereitung gewöhnlich in Flaschen gegossen, zugekorkt, zum Zweck, ein gärendes Getränk zu erhalten, und alsdann bis zum Gebrauch im Eiskeller bei einer Temperatur von 6—12° gehalten.

Untersuchen wir die Azidität des Kumys im Eiskeller, so sehen wir, daß sie nicht stabil bleibt, sondern die Tendenz zu einer recht bedeutenden Steigerung besitzt.

Zur Illustration führen wir weiter unten einige Zahlen an, welche die dem Alter des Kumys und der Aufbewahrungstemperatur desselben parallellaufende Änderung der konstanten Azidität (ohne Kohlensäure) zeigen.

Tabelle 1.

Aufbewahrungsdauer des Kumys	Aufbewahrungstemperatur	(Konstante) Azidität	Anmerkung
4 Stunden	13°	68°	Nr. 1: Azidität nach Thörner.
7 „	10°	68°	Nr. 2: Die Proben wurden aus
24 „	6°	73°	ein u. derselben Flasche m. Hilfe
48 „	6°	77°	eines Syphons mit Schraubenverschluß genommen.
144 „	12°	98°	

Wenn man Proben von noch längerer Aufbewahrungsdauer nimmt, ist der Unterschied der Azidität noch bedeutender.

Tabelle 2.

Aufbewahrungsdauer des Kumys	Aufbewahrungstemperatur	(Konstante) Azidität
1 Tag	10°	97°
12 Tage	10°	141°
23 Tage	10°	158°
1 Tag	10°	87°
30 Tage	12°	149°
14 Stunden	12°	100°
2 Tage	8°	103°
12 Tage	6°	117°

Zur Untersuchung des oben erwähnten Prozesses übergehend, müssen wir auf die Charakteristik der Mikroflora des Kumys näher eingehen: im gegebenen (vorliegenden) Falle wurde der Kumys mit Reinkulturen von Milchsäurebakterien und Milchhefe, die aus dem Kumys isoliert waren, zubereitet.

Das Milchsäurebakterium gehört nach seinen physiologischen und morphologischen Eigenschaften zum Bact. bulgaricum. Auf Kuhmilch stellt es Stäbchen von 2,2—6,1 μ Länge und 0,6 μ Breite dar. Es bildet lange Fäden und Ketten und läßt sich nach Gram färben. Auf den üblichen Fleischpeptonnährböden zeigt es kein Wachstum (ohne Zucker). Es vergärt Milchzucker, Dextrose, Lävulose, Galaktose, Mannose, in schwachem Grade auch Arabinose und Maltose. Auf Nährböden mit Saccharose, Glyzerin, Mannit, Dextrin, Raffinose, Erythrit bewirkt es keine Gärung. Die tiefliegenden Kolonien sind zweigförmig, spinnenförmig. Das Bakterium ist ein starker Säurebildner (entwickelt Säure in hohem Grade). Die maximale Azidität auf Milch beträgt 326° T. Die Milch gerinnt bei Einimpfung

einer Öse in das Reagenzglas bei 40° nach 10 Std. Die optimale Entwicklungstemperatur liegt bei etwa 45°, die maximale bei etwa 50°, die minimale bei etwa 20°. Die Hefe gehört zur Torula; ihre Ausmaße sind: 8,3—6,0 μ : 4,7—3,7 μ. Sie bildet keine Sporen. Sie vergärt Glykose, Lävulose, Galaktose, Mannose, Milchzucker, Saccharose, Raffinose und bringt Glyzerin, Mannit, Arabinose, Dextrin und Maltose nicht in Gärung. Ihre maximale Entwicklungstemperatur liegt ungefähr bei 45°, die optimale bei 37°, die minimale dagegen ist unter 10°. In der Milch bildet sie bei der Gärung eine gewisse Menge Säure.

Demgemäß erhellt aus der Beschreibung des Gärungsagenten, daß die Steigerung der Azidität im Kumys beim Erkalten durchaus nicht mit der Vermehrung der Milchsäurebakterien zusammenhängt, da die letzteren ein ziemlich hohes Temperaturminimum besitzen. Die Möglichkeit der Annahme einer Entwicklung begleitender Milchsäure bildender Bakterien, die eine niedrige Minimaltemperatur besitzen, fällt ebenfalls fort, was durch Mikroskopieren und Aussaatmethode konstatiert wurde.

Natürlich ist eine gewisse Steigerung der Azidität mit der alkoholischen Gärung verbunden, sie ist jedoch verhältnismäßig gering, so daß damit die so große Säureanhäufung nicht erklärt werden kann.

Tabelle 3.

Versuche mit Stutenmilch.

Milch	Benennung der Mikroben	Temperatur	Ausgangsazidität	Azidität nach Tagen							
				1	3	4	6	10	14	20	30
	Milchhefe		13°		13°		13°	21°		21°	30°
	Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	8–10°	140°		152°		152°	163°		180°	180°
	Milchsäure-Hefe + Milchsäure-Bakt. (Stamm 1)		147°		160°		162°	169°		182°	182°
	Milchhefe		13°		13°		15°	24°		30°	38°
	Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	13–15°	140°		158°		160°	185°		208°	
	Milchsäure-Hefe + Milchsäure-Bakt. (Stamm 1)		147°		160°		175°	189°		210°	222°
Sterilisiert	Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	9°	88°	100°		110°					
	do.	10°	129°					174°			
	do.	14°	130°					188°			
Pasteurisiert	Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	14–16°	116°			130°			147°		
	Milchsäure-Bakterium (Stamm 2)	14–16°	130°			130°			147°		

Die Azidität ist konstant.

Die milchsauren Bakterien (Stamm 1 und 2) wurden aus Kumys isoliert. Die Charakteristik des Stammes 1 ist oben angeführt. Der Stamm 2 besitzt einen Minimalpunkt der Entwicklung, ebenso wie der Stamm 1.

In der Tat zeigten die weiteren Untersuchungen, daß dabei die milchsaure Gärung, wie die Tabellen 3, 4 und 5 zeigen, eine große Rolle spielt. Die Technik der Versuche bestand in folgendem: Die Milch wurde in Fläschchen mit der Reinkultur der Mikroben infiziert und auf 24 Std. in den Thermo-

stat gestellt. Darauf wurde sie der Erkaltung bis zu einer bestimmten Temperatur unterworfen und in ihr die Ausgangsazidität bestimmt, worauf die Fläschchen bei verschiedenen Temperaturen eingestellt wurden. Die Proben wurden in bestimmten Zwischenräumen aus ein und denselben Fläschchen unter Beobachtung der sorgfältigsten Sterilität genommen, dabei wurde ebenfalls die Reinheit der Kultur nachgeprüft. Bei der Entnahme der Proben wurde die Erhöhung der Milchtemperatur ausgeschlossen. In derselben Weise wurden die Versuche auch auf der Schotte angestellt.

Tabelle 4.
Versuche in steriler Kuhmilch.

Benennung der Bakterien	Menge der zugefügten Kultur	Temperatur	Ausgangsazidität	Azidität nach Tagen 2	4	6	10	12	16	21
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	1 Öse	8–13°	18°			18°		18°	18°	18°
do.	—		186°			226°		260°	252°	242°
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)		2—5°	146°				154°			
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	1 Öse	12–16°	18°	18°	18°	18°	18°			
do.	—		222°	222°	230°	242°	252°			
Milchsäure-Bakterium (Stamm 3)	1 Öse	8–13°	18°			18°		18°	18°	18°
do.	—		100°			118°		134°	132°	128°
Milchsäure-Bakterium (Stamm 3)	1 Öse	12–16°	18°	18°	18°	18°	18°			
do.	—		122°	122°	132°	142°	150°			
Milchsäure-Bakterium (Stamm 4)	1 Öse	8–13°	18°			18°		18°	18°	18°
do.	—		192°			220°		252°	248°	240°
Milchsäure-Bakterium (Stamm 4)	1 Öse	12–16°	18°	18°	18°	18°	18°			
do.	—		216°	220°	236°	240°	254°			
Bact. casei ε	1 Öse	8–13°	18°			18°		18°	18°	18°
do.	—		94°			136°		160°	152°	144°
Bact. casei ε	1 Öse	12–16°	18°	18°	18°	18°	18°			
do.	—		108°	130°	148°	154°	154°			

Stamm 3 ist Laboratoriumsstamm.

Stamm 4 ist aus Kumys isoliert. Die minimale Entwicklungstemperatur ist dieselbe wie bei Stamm 1.

Tabelle 5.
Versuch in Schotte + 1½% Pepton.

Benennung der Bakterien	Temperatur	Ausgangsazidität	Azidität nach Tagen 10	24
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	9—10°	40°	49°	55°
do.	12—15°	46°	65°	69°
Milchsäure-Bakterium (Stamm 3)	9—11°	26°	29°	31°
do.	12—15°	29°	31°	35°
Bact. casei ε	9—11°	60°	61°	63°
do.	12—15°	56°	58°	60°

Aus den Tabellen ist zu ersehen, daß die Schnelligkeit der Aziditätssteigerung sich in Abhängigkeit von der Temperatur befindet. Dieses Moment wird noch deutlicher durch die weiteren Versuche beleuchtet werden. Gleichzeitig mit der Erniedrigung der Temperatur wird die milchsaure Gärung verlangsamt. Unter anderem ist es von Interesse, zu bemerken, daß sogar die Temperatur von 2—5° den Prozeß nicht zum Stillstand bringt. Ferner, wenn wir in den Versuchen mit Stutenmilch (Tab. 3) die in Anwesenheit der Milchhefe allein und in ihrer Kombination mit den Milchsäurebakterien erhaltene Azidität vergleichen, so kommen wir zum Schluß, daß die Steigerung der Azidität im Kumys hauptsächlich von der milchsauren Gärung abhängt, während bei der alkoholischen Gärung die Steigerung verhältnismäßig gering ist.

Der Vergleich der Azidität in Kuh- und Stutenmilch zeigt, daß in der letzteren die Steigerung infolge besonderer physikalisch-chemischer Eigenschaften der Stutenmilch langsamer vor sich geht. (Diese Frage wird in den Veröffentlichungen der Expedition zum Studium der Kumysbereitung eingehend untersucht werden.) Jedenfalls geht sowohl bei der ersteren als auch bei der letzteren die Aziditätskurve aufwärts. Auf das Fehlen eines Zusammenhanges des erwähnten Prozesses mit der Vermehrung der Bakterien weist in gewissem Grade die Kontrolle bei der Infizierung der Milch mit 1 Öse der Kultur der Milchsäure-Bakterien hin, wo der Säuregrad auf ein und derselben Höhe bleibt.

Die Steigerung der Azidität verläuft jedoch im Falle des Vorhandenseins verschiedener Stämme nicht gleichartig. So ist z. B. beim Stamm 3 und bei B a c t. c a s e i eine weniger energische Gärung im Vergleich mit den Stämmen 1 und 4 bemerkbar. Der Stamm 3 und B a c t. c a s e i sind unter optimalen Bedingungen weniger aktiv, entwickeln einen geringeren Säuregrad im Vergleich mit den Stämmen 1 und 4. Eine verhältnismäßig schwache Aktivität äußert sich ebenfalls bei Temperaturen, die niedriger als ihre minimalen Entwicklungstemperaturen sind.

Die Steigerung der Azidität steht gleichfalls in Zusammenhang mit der Z e i t. Zuerst macht sich ein schroffes Aufschnellen bemerkbar. Darauf schwächt sich der Prozeß zu einem gewissen Zeitpunkt ab, wonach die Azidität sich sogar verringert. Die Erklärung der Ursachen erhalten wir aus dem weiter unten angeführten, diese Erscheinung bestätigenden Material.

Außer den oben angeführten Faktoren ist, wie die Tabelle 5 zeigt, auch der Nährboden von Bedeutung. In Schotte mit Pepton bleibt die Schnelligkeit der Aziditätssteigerung bedeutend hinter der der Milch zurück. Überhaupt verläuft die milchsaure Gärung auf diesem Nährboden auch bei optimalen Bedingungen viel langsamer; das kann man aus der Ausgangsazidität sehen.

Demnach äußert sich die ungünstige Zusammensetzung des Nährbodens ebenfalls in der Gärung bei niedrigen Temperaturen.

Von den oben erwähnten Ergebnissen ausgehend, stellten wir eine Reihe von Versuchen an, die in der Tabelle 6 angeführt sind. Die Versuche wurden in Fläschchen mit sterilisierter Kuhmilch (100 ccm) angestellt. In die bis zur entsprechenden Temperatur abgekühlten Fläschchen wurden stufenweise zunehmende Dosen einer ebenso abgekühlten eintägigen Kultur von Milchsäure-Bakterien eingeführt. Bei der Entnahme der Proben zur Analyse wurden die bereits weiter oben angegebenen Bedingungen beobachtet.

Tabelle 6.

Benennung der Bakterien	Temperatur	Menge der zugefügten Kultur	Ausgangsazidität	Azidität nach Tagen				
				3	8	14	27	33
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	6—10°	1 Öse	20°	20°	20°	20°	20°	
do.		1 ccm	20°	21°	22°	22°	22°	
do.		10 „	28°	30°	36°	40°	44°	
do.		20 „	36°	41°	50°	62°	75°	
do.		—	152°	174°	200°	226°	220°	
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	9—10°	1 ccm	19°					26°
do.		10 „	23°					81°
do.		20 „	28°					111°
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	15—16°	5 ccm	26°				96°	
do.		10 „	30°				147°	
do.		20 „	42°				210°	
do.		—	170°				310°	
Milchsäure-Bakterium (Stamm 3)	6—10°	1 Öse	20°	20°	20°	20°	20°	
do.		1 ccm	20°	20°	20°	20°	20°	
do.		10 „	30°	30°	30°	42°	48°	
do.		20 „	34°	34°	34°	40°	54°	
do.		—	100°	100°	108°	120°	102°	
Milchsäure-Bakterium (Stamm 3)	9—10°	1 ccm	17°					17°
do.		5 „	21°					26°
do.		10 „	24°					40°
do.		20 „	28°					63°
Bact. casei ε	9—10°	1 ccm	18°					27°
do.		5 „	21°					35°
do.		10 „	23°					51°
do.		20 „	28°					79°
Bact. casei ε	15—16°	1 ccm	21°				28°	
do.		10 „	26°				78°	
do.		20 „	32°				123°	
do.		—	97°				173°	

Es ist klar, daß die Daten der Tabelle 6 die Richtigkeit unserer Schlußfolgerungen in vollem Umfang bestätigen.

Wir beobachten einen Zusammenhang der Aziditätssteigerung mit der Menge der zugefügten Kultur und mit der Temperatur; mit dem Ansteigen der Temperatur verstärkt sich die milchsaure Gärung. Die Anhäufung der Säure kann dabei sehr bedeutende Zahlen erreichen. Z. B. für den Stamm 1 (im Falle der Einführung von 20 ccm) bei der Temperatur 6—10° nach 27 Tagen von 36° bis 75° und bei der Temperatur 15—16° von 42° bis 210° in derselben Frist. Als roter Faden zieht sich durch alle Versuche die Rolle der Aktivität der Milchsäure-Bakterien in der Säurebildung. Eine geringe Aktivität hat eine Verringerung der Gärungsfunktionen zur Folge. Ebenso läßt sich das Sinken der Azidität gegen Ende der Versuche in den Kulturen mit hoher Ausgangsazidität feststellen.

Ein besonderes Interesse bietet die direkte Abhängigkeit der Aziditätssteigerung von der Menge der eingeführten Kultur. Als Beispiel nehmen

Tabelle 7.

Benennung der Bakterien	Menge d. hinzugefügten Kultur	Temperatur	Azidität und Zahl der Bakterien in 1 ccm (direkte Zählung) nach Tagen					
			Ausgang		14		35	
			Azidität	Bakterienzahl	Azidität	Bakterienzahl	Azidität	Bakterienzahl
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	1 Öse	6–10°	18°	237 Taus.	18°	235,9 Taus.	18°	
do.	1 ccm		20°	6,1 Mill.	20°	5,9 Mill.	20°	6,1 Mill.
do.	10 „		26°	41,0 „	36°	41,2 „	40°	40,9 „
do.	—		116°		149°			
Milchsäure-Bakterium (Stamm 3)	1 Öse	6–10°	18°	471,9 Taus.	18°	314,6 Taus.	18°	157,3 Taus.
do.	1 ccm		18°	5,1 Mill.	18°	6,4 Mill.	18°	3,9 Mill.
do.	10 „		23°	53,6 „	27°	52,5 „	30°	48,7 „
do.	—		98°		117°		130°	
Bact. casei ε . .	1 Öse	6–10°	18°	157,3 Taus.	18°	157,3 Taus.	18°	122 Taus.
do.	1 ccm		18°	3,4 Mill.	20°	3,9 Mill.	20°	2,8 Mill.
do.	10 „		24°	29,5 „	25°	27,6 „	32°	26 „
do.	—		96°		114°		126°	

Tabelle 8.

Benennung der Bakterien	Menge d. hinzugefügten Kultur	Temperatur	Azidität und Zahl der Bakterien in 1 ccm (direkte Zählung) nach Tagen					
			Ausgang		12		19	
			Azidität	Bakterienzahl	Azidität	Bakterienzahl	Azidität	Bakterienzahl
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	1 Öse	14–16°	22°	629 Taus.	22°	629 Taus.	22°	314,6 Taus.
do.	2,5ccm		23°	19,3 Mill.	32°	17,7 Mill.	36°	14,7 Mill.
do.	5 „		29°	32,1 „	46°	31,4 „	60°	31 „
	—		184°		242°		276°	
	Die Zellen sind stark verändert, färben sich schwach							
Milchsäure-Bakterium (Stamm 3)	1 Öse	14–16°	22°	377,5 Taus.	22°	314,6 Taus.	22°	184,2 Taus.
do.	2,5ccm		22°	17,6 Mill.	26°	10,2 Mill.	26°	8,8 Mill.
do.	5 „		24°	44,8 „	28°	34,4 „	32°	33,1 „
	—		128°		168°		180°	
	Die Zellen sind verändert, färben sich schwach							
Bact. casei ε . .	1 Öse	14–16°	22°	361,7 Taus.	22°	235,7 Taus.	22°	157 Taus.
do.	2,5ccm		22°	17,5 Mill.	26°	14,3 Mill.	28°	11,7 Mill.
do.	5 „		22°	39,4 „	40°	2,7 „	48°	26,1 „
	—		116°		168°		172°	
	Die Zellen färben sich schwach							

wir die Daten für den Stamm 1 bei der Temperatur 6—10° und 9—10°. Bei der Einführung einer Öse kann man natürlich schwerlich eine Steigerung der Azidität bei der Bestimmung mit einer verhältnismäßig groben Methode, wie z. B. das Titrieren mit $^1/_{10}$ n Natriumhydroxyd erwarten. Im Falle der Hinzufügung von 1 ccm erhalten wir jedoch eine Steigerung der Azidität um 2°. Wenn wir die letztere Zahl als Einheit annehmen, so sehen wir, daß bei der Einführung von 10 ccm die Azidität sich um 18°, d. h. um das Neun-

Tabelle

Benennung der Bakterien	Menge der zugefügten Kultur	Temperatur	Azidität und Anzahl A = Azidität; B = Bakterien-Anzahl								
			Ausgang			7			17		
			A	B	C	A	B	C	A	B	C
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	5 ccm	4–	26°	24 Mill.	26,2M.	27°	12,9 Mill.	22,8M.	30°	7,2 Mill.	
do.	10 „	10°	30°			34°			38°	46,3 „	
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	5 ccm	9–	26°	22 Mill.	23,5M.	31°	11 Mill.	23 M.	35°	143,7 Ts.	
do.	10 „	15°	30°			42°	15 „		52°	800 „	
						11 Tage			21 Tage		
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	10 ccm	13–	26°	54,5 Mill.		58°	310 Ts.		84°	200 Ts.	
do.	10 „	15°	27°	41,2 „		60°	160 „		83°	120 „	
						11 Tage			15 Tage		
Bact. casei ε		10–	24°	113,5 Mill.		28°	53 Mill.		33°	25,5 Mill.	
do.		13°	28°	312,5 „		38°	316 „		52°	125 „	
Bact. casei ε		15–	24°	93,5 Mill.		32°	40 Mill.		43°	34°	
do.		17°	28°	372,5 „		44°	120,5 „		87°	63,7 Mill.	

fache erhöht hat, und bei 20 ccm um 41°, d. h. um das 20,5fache. Dasselbe wird sich auch auf die Temperatur 9—10° beziehen. Hier werden folgende Zahlen erhalten: für 1 ccm ist die Steigerung 5° = 1mal, für 10 ccm 58° = 11,6mal, für 20 ccm 93° = 18,6mal höher. Derartige Regelmäßigkeiten, natürlich mit Schwankungen im Zusammenhang mit der Temperatur und den Stämmen bestätigen abermals, daß wir es im gegebenen Falle nicht mit der Vermehrung der Milchsäure-Bakterien, sondern mit der Fortdauer der Lebenstätigkeit der ursprünglich eingeführten Zellenmenge zu tun haben.

Als Beweis dienen die Tabellen 7 und 8. Die Versuchsbedingungen sind den in der Tabelle 6 angeführten analog, nur daß hier die Bakterienmenge parallel mit der Methode der direkten Zählung berechnet wurde.

Aus der Betrachtung der Tabellen ist zu ersehen, daß der Prozeß der milchsauren Gärung bei niedrigen Temperaturen nicht von der Vermehrung der Milchsäure-Bakterien begleitet ist. Ihre Menge bleibt konstant oder ist sogar von einer gewissen Verringerung, besonders bei der Temperatur 14—16°, begleitet. Offenbar findet ein teilweiser Zerfall statt, da die Zellen sich stark verändern: es erscheinen lange, auseinandergezogene, aufgeblähte Formen, die sich schwer färben lassen.

In den angeführten Versuchen wird die Abhängigkeit der Aziditätssteigerung von der Ausgangsanzahl der Zellen in der Milch in Anwesenheit sowohl der Stämme 1 und 2, als des Bact. casei deutlich betont.

Zur Kontrolle wurden von uns Versuche ähnlichen Charakters auf verschiedene Fristen und bei verschiedenen Temperaturen mit Berechnung der Bakterienzahl nicht bloß mit der Methode der direkten Zählung unter dem Mikroskop, sondern auch durch Aussaat auf Schotte-Agar mit Pepton auf Petri-Schalen angestellt. Wir überzeugten uns auf Grund langwieriger Arbeiten, daß die Isolierung und Zählung der Milchsäure-Bakterien

Nr. 9.

der Bakterien in 1 ccm nach Tagen

(Aussaat); C = Bakterien-Anzahl (direkte Zählung)

28			38			48			72		
A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
32°	4,8 Mill.	22,6 Mill.	38°	2,4 Mill.	23 Mill.	33°	340 Ts.	19,8 Mill.	31°	500 Ts.	22,7 Mill.
42°	19,6 „		48°	2,9 „		43°	417 „		42°	1,5 „	
38°	100 Ts.	23 Mill.	46°	5 Ts.	20,9 Mill.	42°	1 Ts.	21,3 Mill.	36°	< 10	19,9 Mill.
56°	335 „		66°	29 „		62°	> 1 „		58°	< 100	
31 Tage			60 Tage								
94°	< 1 Ts.		100°	< 10							
91°	1 „		98°	< 10							

bei diesem Verfahren möglich ist. Die Ergebnisse führen wir in der Tabelle 9 an.

Die Daten der Tabelle bestätigen abermals das Fehlen der Vermehrung der Bakterien. Im Gegenteil, während die direkte Zählung in diesem Falle eine konstante Größe zeigte, ergaben die Aussaaten ein progressives Aussterben der Bakterien.

Der Untergang der Bakterien geht um so schneller vor sich, je höher die Temperatur ist. Gleichzeitig damit ist deutlich zu sehen, daß die Schnelligkeit der Aziditätssteigerung mit der Anwesenheit lebender Zellen im Nährboden zusammenhängt: in Gemäßheit ihres Aussterbens tritt eine Verlangsamung des Prozesses ein; darauf beginnt die Azidität, die bis dahin eine gewisse Höchstgrenze erreicht hat, zu fallen.

Das Sinken der Azidität, das mit dem fast völligen Aussterben der Bakterien zusammenfällt, läßt sich offenbar durch die Autolyse der Zellen und die postmortale Wirkung der proteolytischen Endoenzyme erklären.

Wir kommen zum Schluß, daß die milchsaure Gärung eine Funktion der lebenden Zelle ist.

Hieraus ist es verständlich, daß die Aziditätssteigerung bei niedrigen Temperaturen, die unter der Temperatur der Bakterienvermehrung liegen, durch die fortdauernden Lebensprozesse in der zur Teilung unfähigen Zelle zu erklären ist. Indem wir die Temperatur stark erniedrigen, verlangsamen wir die Stoffwechselprozesse und verlängern gleichzeitig die Lebensfrist der Zelle. Umgekehrt, wenn wir die Temperatur erhöhen, beschleunigen wir den Stoffwechsel und verkürzen die Lebensdauer der Bakterien. Das zeigt sich besonders beim Studium der milchsauren Gärung bei Temperaturen, die über der Maximaltemperatur der Bakterienentwicklung liegen, worauf wir in unserer nächsten Mitteilung näher eingehen werden. Einen gewissen

Beweis für unsere Behauptung bieten die Versuche mit Antiseptica (Chloroform und Toluol, Tab. 10) und mit einer längere Zeit im Thermostat gehaltenen Kultur, in der die Bakterien bereits zugrunde gegangen sind.

Die Versuche mit den Antiseptica wurden gleichzeitig mit Kontrollversuchen (ohne Hinzufügung der letzteren) angestellt. Die infizierten Fläschchen wurden mit sterilen Pfropfen verkorkt, mit Paraffin oben übergossen und sorgfältig geschüttelt, was von Zeit zu Zeit im Verlaufe aller Versuche vorgenommen wurde. Die Temperaturbedingungen wurden in gleicher Weise wie in allen vorhergehenden Versuchen beobachtet. Zum Schluß der Versuche wurde das Vorhandensein der Antiseptica registriert.

Tabelle 10.

Benennung der Bakterien	Temperatur		Ausgangsazidität	Azidität nach Tagen 8	14	20	28
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	9—13°	Kontrolle	124°	160°			
		+ Chloroform[1])	116°	116°	116°		
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	12—15°	Kontrolle	151°				280°
		+ Chloroform[2])	160°				166°
		+ Toluol[2])	148°				164°
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	12—16°	Kontrolle	38°				211°
		+ Chloroform[2])	39°				58°
		+ Toluol[2])	39°				93°
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	14—15°	Kontrolle	207°			290°	
		+ Chloroform[2])	194°			202°	
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	12—15°	Kontrolle	28°		157°		
		+ Chloroform[2])	28°		38°		
		+ Toluol[2])	28°		52°		
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1)	16—19°	Kontrolle	90°	192°	208°		
		+ Chloroform	98°	100°	102°		
Milchsäure-Bakterium (Stamm 3)	9—13°	Kontrolle	93°	100°	102°		
		+ Chloroform[1])	77°	77°	77°		
Milchsäure-Bakterium (Stamm 3)	12—15°	Kontrolle	108°				164°
		+ Chloroform[2])	100°				114°
		+ Toluol[2])	107°				118°
Milchsäure-Bakterium (Stamm 3)	14—15°	Kontrolle	133°			172°	
		+ Chloroform[2])	127°			143°	
		+ Toluol[2])	136°			151°	
Milchsäure-Bakterium (Stamm 3)	16—19°	Kontrolle	78°	120°	130°		
		+ Chloroform[1])	72°	72°	78°		
Bact. casei ε	9—13°	Kontrolle	50°	79°	86°		
		+ Chloroform[1])	42°	42°	48°		
Bact. casei ε	12—15°	Kontrolle	62°				150°
		+ Chloroform[2])	61°				67°
Bact. casei ε	16—19°	Kontrolle	34°	98°			
		+ Chloroform[1])	38°	42°			

Die Versuche wurden in Kuhmilch angestellt.

[1]) Auf 50 ccm Kultur wurde 1 ccm Chloroform zugefügt.

[2]) Auf 100 ccm Kultur wurde 1,5 ccm Chloroform und ebensoviel Toluol zugefügt.

Die Durchsicht der Daten der Tabelle 10 zeigt, daß die Aziditätssteigerung in Anwesenheit von Chloroform und Toluol bei verschiedenen Temperaturen, Zeiten und Ausgangsaziditäten verhältnismäßig unbedeutend ist.

Zugleich töteten die beigefügten Dosen der Antiseptica die Bakterien nicht vollständig. Die Einimpfung e i n e r Öse in ein Probiergläschen mit Milch bewirkte Gerinnung.

Demnach verlangsamen Chloroform und Toluol bei ihrer Einwirkung auf die lebenden Bakterien den Stoffwechsel in den Zellen und halten gleichzeitig einerseits die Aziditätssteigerung auf, andererseits ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß ein gewisser Teil der Zellen zugrunde geht, ein Faktor, der sich völlig negativ in der milchsauren Gärung äußert, wie aus der Tabelle 11 zu ersehen ist.

Tabelle 11.

Benennung der Bakterien	Temperatur	Ausgangsazidität	Azidität nach 15 Tagen
Milchsäure-Bakterium (Stamm 1) . .	12—15°	48°[1]) 28°[2])	51° 157°

[1]) Zu 100 ccm Kuhmilch wurden 20 ccm Kultur, die 1 Tag bei 40° und 14 Tage bei 30° gestanden hatte, zugefügt. (Die Bakterien waren a l l e zugrunde gegangen.)
[2]) Zu 150 ccm Kuhmilch wurden 20 ccm einer eintägigen Kultur hinzugefügt.

Der Vergleich der Zahlen der Tabelle 11 zeigt, daß mit dem Tode der Milchsäure-Bakterien gleichfalls die milchsaure Gärung aufhört.

Zusammenfassung.

1. Die Aziditätssteigerung in den milchsauren Produkten der kombinierten (milchsauren und alkoholischen) Gärung und ebenso der reinen milchsauren Gärung bei Temperaturen unter dem Temperaturminimum der Milchsäure-Bakterien steht in keinem Zusammenhang mit der Vermehrung der letzteren.
2. Die milchsaure Gärung bei niedrigen Temperaturen befindet sich in Abhängigkeit von der Temperatur, dem Nährboden, der Zusammensetzung und Azidität, der Aktivität der Milchsäure-Bakterien und von der Zeit.
3. Die Aziditätssteigerung befindet sich in direkter Abhängigkeit von der eingeführten Kulturmenge, was mit der Zellenmenge zusammenhängt, wie die Versuche mit Einführung verschiedener Kulturdosen, direkter Bakterienzählung und der Berechnung ihrer Menge durch die Aussaatmethode zeigen.
4. Die Schnelligkeit der Aziditätssteigerung hängt zweifellos mit der Anwesenheit lebender Zellen im Nährboden zusammen.
5. Das Verklingen der milchsauren Gärung und die Verringerung der Azidität sind das Ergebnis des Aussterbens der Bakterien und der Wirkung der Proteolyse.
6. Die milchsaure Gärung bei einer Temperatur, die unter dem Minimum der Entwicklungstemperatur liegt, ist eine Funktion der lebenden Zelle, ihres Stoffwechsels und hört mit dem Tode der Bakterien auf.

Nachdruck verboten.

Mikrobiologische Untersuchungen über die Zersetzung von Waldstreu.

I. Mitteilung.

[Aus der mikrobiologisch-chemischen Abteilung der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von **C. Stapp** und **H. Bortels.**

Mit 1 Abbildung im Text und 2 Tafeln.

Ein beträchtlicher Teil deutscher Wälder stockt auf mehr oder weniger leichten und kalk- und nährstoffarmen Böden. Hier — und zwar besonders in stark humiden Klimagebieten — leidet der Wald häufig darunter, daß die in ihm anfallenden Massen toter organischer Substanz nicht schnell und weitgehend genug zersetzt, und darum die in diesem Material festgelegten Nährstoffe viel zu langsam oder gar nicht für die höheren Pflanzen wieder verfügbar werden. Hinzu kommt, daß die Forstwirtschaft im allgemeinen nur die Ernte, aber keine Düngung kennt. Außer bei der Versorgung der Bäume mit Nährsalzen wirkt sich diese Auflagerung von unvollständig zersetzter Streu, der sog. Rohhumus oder Trockentorf, auch noch in manch anderer Hinsicht, z. B. bei der natürlichen Verjüngung, für den Waldbau nachteilig aus. Über die Ursachen dieses großen Schadens und über die Möglichkeiten seiner Bekämpfung ist schon viel geschrieben worden, allerdings fast nur von bodenkundlichen und kaum von mikrobiologischen Gesichtspunkten aus. Daß die primäre Ursache der Rohhumusbildung auf bodenkundlichem Gebiet zu suchen ist, dürfte wohl als ziemlich sicher anzunehmen sein. Schon aus der bereits erwähnten Verbreitung der Rohhumuswälder geht das hervor. Infolge der fortgesetzten einseitig von oben nach unten gerichteten Wasserbewegung in solchen leichten Böden von mangelhafter Kapillarstruktur wurden Kalk und andere Basen bzw. Nährstoffe der oberen Schichten allmählich ausgewaschen, während gleichzeitig und mit fortschreitender Entbasung und damit einhergehender stärkerer Versäuerung in steigendem Maße Verbindungen anderer, hier oftmals reichlich vorhandener Elemente, etwa des Mangans oder des Aluminiums mehr und mehr in den Ionenzustand überführt wurden. Wenn die Entbasung einen gewissen Grad erreicht hat, dann wirken die bei der Streuzersetzung entstehenden organischen Säuren und saueren Humuskolloide, die nun nicht mehr neutralisiert werden können, ihrerseits auf den Auswaschungsvorgang beschleunigend ein. In ihrer Gesamtheit betrachtet, treten alle diese Vorgänge letzten Endes als starke Verschiebung des im weniger beeinflußten fruchtbaren Boden herrschenden Ionengleichgewichts in Erscheinung. Das ist die bodenkundliche Seite des Problems.

Es gilt nun aber auch, die Untersuchungen von biologischer Seite in Angriff zu nehmen, zu analysieren, auf welche lebendigen Einzelbestandteile des Waldes und in welcher Weise sich diese Verschiebung des Ionengleichgewichts der Bodenlösung auswirkt. Denn das eigentliche Ziel aller Arbeiten auf diesem Gebiete ist ja die nutzbringende Gesunderhaltung unserer Wälder, die Lebensgemeinschaften darstellen, in denen die Welt der Mikroorganismen gleichberechtigt neben derjenigen der höheren Pflanzen steht.

Deshalb haben wir uns die Aufgabe gestellt, die mikrobiologischen Ursachen der Rohhumusbildung und ihrer Begleiterscheinungen möglichst in allen Einzelheiten aufzufinden, d. h. festzustellen,

1. welche Mikroorganismen an der Zersetzung der Waldstreu und an anderen für die Waldvegetation wichtigen biochemischen Umsetzungen in Streu und Boden beteiligt sind,

2. ob die Mikrobenflora in der sich vollkommen zersetzenden Streu die gleiche ist wie in der sich unvollkommen zersetzenden derselben Baumart,

3. warum im bejahenden Falle die Mineralisation dort vollständig und hier unvollständig ist,

4. ob es möglich ist, im verneinenden Falle den Abbau der zur Rohhumusbildung neigenden Streu durch Zuführung von hier fehlenden Mikroben aus der sich schnell und vollkommen zersetzenden Streu in „normale" Bahnen zu lenken oder aber,

5. ob Stoffe im Rohhumus und zugehörigen Boden fehlen, die für die vollkommene Mineralisation notwendig sind, oder

6. ob sich hier für die intensiv abbauenden Mikroben schädliche oder indifferente Substanzen gebildet haben, und schließlich

7. welche Stoffe fehlen, und wie etwa schädlich oder indifferent wirkende unschädlich bzw. dem Angriff der Mikroorganismen wieder zugänglich gemacht werden können.

Das Ziel wäre erreicht, wenn es gelänge, auf Grund dieser Feststellungen Klarheit darüber zu schaffen, wie die Bildung von Rohhumus und dessen für den Wald nachteilige Begleit- und Folgeerscheinungen am zweckmäßigsten verhindert oder vorliegende Zustände dieser Art beseitigt werden können.

Aus der Vielfältigkeit der chemischen Zusammensetzung einer bestimmten Waldstreu und der hieraus folgenden Vielgestaltigkeit der in ihr verlaufenden mikrobiologischen Abbaureaktionen ergab es sich, daß im Rahmen des skizzierten Arbeitsplanes eine Reihe von größeren mikrobiologischen Einzelproblemen in Angriff genommen werden mußte. Von ihnen wurde dasjenige der mikrobiellen Zellulosezersetzung zunächst am eingehendsten bearbeitet, weil die Streu zum großen Teil aus Zellulose besteht und die an ihrer Zersetzung beteiligte Mikroflora sehr verschiedenartig ist.

Zellulosezersetzende Mikroorganismen in der Waldstreu.

In dieser Mitteilung soll über die aus den verschiedenen Streuproben bisher isolierten Arten berichtet werden, ohne daß dabei Anspruch auf Vollständigkeit gemacht wird. Die Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen. Es konnten aber außer einigen zunächst rein wissenschaftlich interessanten Beobachtungen auch Ergebnisse gewonnen werden, die gewisse Beziehungen zur Streuzersetzung selbst deutlich erkennen lassen.

Als Ausgangsmaterial für die Untersuchungen dienten Waldstreuproben aus der Umgebung Berlins und aus dem Hils (Braunschweig). Später wurden auch noch solche aus der Umgebung Göttingens hinzugezogen. Die Auswahl war so getroffen, daß jede Streuart, nämlich Buche, Fichte und Kiefer, jeweils mindestens einmal aus Beständen mit intensiver Streuzersetzung und einmal aus solchen mit mehr oder weniger starken Roh-

Tab. 1. Übersicht über die Waldstreuproben und ihre Herkunft.

Streuarten	B. G.	B. W.	B. Fk.	F. G.	F. W.	F. H.	K. W.	K. Fk.
Herkunft	Göttinger Wald	Wannsee b. Berlin, Försterei „DreiLinden"	Försterei Finkenkrug b. Berlin	Wie B. G.	Wie B. W.	Forstbezirk Wenzen a. Hils	Wie B. W.	Wie B. Fk.
Bodenkundliches	Oberer Muschelkalk	Sandiger Lehm mit Mergeluntergrund	Alluvialer Talsand	Wie B. G.	Wie B. W.	Hilssandstein	Sand mit zusammenhängender Lehmplatte	Wie B. Fk.
Bestand	Älterer geschlossen. Bestand v. Fagus silvatica	Stangengehölz. Fagus silvatica + Quercus coccinea[1])	Älterer Mischwald. Fagus silvatica + Carpinus betulus + Pinus silvestris[1])	Älterer geschlossen. Bestand v. Picea excelsa	Wie F. G.	Verkümmerter Bestand von Picea excelsa	Jüngerer geschlossen. Bestand von Pinus silvestris	Älterer geschlossener Bestand von Pinus silvestris
Unterwuchs	Krautige Kalkflora, dicht	Keiner	Vaccinium myrtillus	Keiner	Keiner	Keiner	Keiner	Teilweise Aspidium Filix mas.
Zersetzungsfähigkeit der Streu	Sehr gut	Sehr gut	Unter Fagus silvatica z. T. sehr schlecht	Gut	Gut	Sehr schlecht	Gut	Z. T. sehr schlecht

B. = Rotbuche. F. = Fichte. K. = Kiefer. G. = Göttingen. W. = Wannsee. Fk. = Finkenkrug. H. = Hils.
[1]) Die Streu wurde unter Rotbuchen gesammelt.

humusauflagen entstammte. Zur vergleichenden Übersicht über die verschiedenen Streuproben mögen die Angaben in Tab. 1 (S. 30) dienen.

Die einzelnen Streu- und Bodenproben wurden an Ort und Stelle entnommen, unter Vermeidung jeglicher Verunreinigung in sterilisiertes Papier verpackt und noch am selben Tage im Laboratorium zur Aufbewahrung in große sterile Deckelschalen ausgeschüttet, in denen sie je nach Bedarf angefeuchtet werden konnten. Aus diesen Schalen wurde für die Laboratoriumsversuche das Impfgut entnommen. Nur F. H. (Streu und Boden von Fichte-Hils) und später F. G. und B. G. (Fichten- und Buchenstreu bzw. Boden aus dem Göttinger Wald) wurden uns freundlicherweise aus Wenzen am Hils bzw. aus Göttingen unter möglichster Vermeidung völligen Luftabschlusses und einer Fremdinfektion als Postpaket zugeschickt[1]).

Nährböden.

Die Anreicherung der zellulosezersetzenden Mikroorganismen wurde im wesentlichen auf dem Wege versucht, der schon von van Iterson (17) beschritten worden ist.

Dabei bedienten wir uns zweier Grundnährlösungen, von denen die eine schwach alkalisch reagierte und Nitrat enthielt (Lösung A) und die andere schwach sauer reagierte und Ammonsulfat enthielt (Lösung S). Die genaue Zusammensetzung dieser Lösungen ist wie folgt:

Nährlösung A		Nährlösung S	
Leitungswasser	1000	Leitungswasser	1000
$NaNO_3$	0,5	$(NH_4)_2SO_4$	0,5
K_2HPO_4	0,25	KH_2PO_4	0,25
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	0,1	$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	0,1
ph ca. 7,6		+ H_2SO_4 bis zur schwach saueren Reaktion[2]). ph ca. 6,0	

Bei den Anreicherungsversuchen stand den Mikroorganismen als alleinige C-Quelle Filtrierpapier oder Cellophan in wechselnden Mengen zur Verfügung, je nachdem, ob der Versuch der Anzucht von aeroben oder anaeroben Zellulosezersetzern dienen sollte. Meistens wurden den Lösungen noch etwa 30 ccm einer Aschenlösung auf 1000 ccm zugesetzt, die wir folgendermaßen herstellten: Kleine Portionen (ca. 5 g trocken) der Streu von B. W., F. W., K. W. und Eberesche wurden in der Quarzschale verascht. Die Asche wurde in etwa 300 ccm Wasser mit einem möglichst geringen Überschuß an Schwefelsäure aufgenommen, filtriert und das Filtrat mit Soda neutralisiert. Es soll aber gleich betont werden, daß sich später herausgestellt hat, daß diese Asche auf die Entwicklung der isolierten Mikroorganismen fast ganz ohne Einfluß ist und daher weiterhin außer Betracht gelassen werden konnte.

Um die so angereicherten Zellulosezersetzer zu isolieren, wurden Platten gegossen[3]) mit einem Agarnährboden, der das Salzgemisch der A- oder S-Lösungen in den obigen Konzentrationen und sehr fein verteilte Zellulose enthielt.

Diese haben wir nach Angabe von Scales (35) hergestellt mit der Abänderung, daß wir die schwefelsäurehaltige Zellulosefällung in Pergamentschläuchen unter fließendem Wasser bis zur neutralen Reaktion dialysierten. Eine nach Bokor (4) notwendige Nachbehandlung mit konzentriertem Ammoniak halten wir auf Grund mehrfach ausgeführter Vergleichsversuche nicht für nötig. Die bis zur neutralen Reaktion dialysierte Zelluloseaufschwemmung wurde auf einer Nutsche mit gehärtetem Filter bis zur dickflüssigen Konsistenz abgesaugt und in Erlenmeyerkolben sterilisiert und aufbewahrt. Von ihr kam bei der Herstellung des Zelluloseagars so viel zur Anwendung, daß der in dünner Schicht ausgegossene Agar schwach getrübt erschien. Da hierfür nur sehr wenig Zellulose erforderlich war, konnte die benötigte Menge der Aufschwemmung bei der Berechnung der Agarkonzentration einfach als Wasser in Ansatz gebracht werden.

[1]) Herrn Forstmeister Volger in Wenzen sei hierfür auch an dieser Stelle bestens gedankt.

[2]) Das Dahlemer Leitungswasser ist sehr kalkreich.

[3]) Gemeint ist immer das Kochsche Plattenverfahren.

Diese Agarkonzentration in den Zelluloseagar-Nährböden ist für eine ganze Reihe der hier in Betracht kommenden Mikroorganismen äußerst wichtig. Schon von Tetrault (42) ist auf die Empfindlichkeit seines thermophilen Zellulosezersetzers gegenüber Agar hingewiesen worden, und auch viele der von uns isolierten, nicht thermophilen Arten vermögen nur dann in Zelluloseagar kräftig zu wachsen, wenn dieser weniger als 1% Agar enthält. Ein solcher Agar-Nährboden — wir verwendeten 0,7—0,8 prozentigen — hat außerdem den Vorzug, daß er erst bei etwa + 33° C erstarrt, mithin auch wärmeempfindliche Formen auf diese Weise isoliert werden können.

A. Thermophile und anaerobe Zellulosezersetzer.

Nach thermophilen Formen der zelluloseangreifenden Mikroorganismen haben wir vorerst nicht gesucht, da ja das natürliche Substrat, die Streu im Walde, solchen Arten kaum geeignete Lebensbedingungen bieten dürfte. Ein neuerdings ausgeführter Versuch hatte das Ergebnis, daß sich in A- und S-Lösung auf Papier bei 50° C nur einige wenige, sehr langsam wachsende Pilze aus den verschiedenen Streuarten entwickelten. Wie allerdings ein solcher Anreicherungsversuch bei Verwendung einer organischen N-Quelle oder unter anaeroben Bedingungen ausfallen würde, das steht noch dahin. Denn, obwohl nach Ansicht von Waksman und Skinner (44) in normalen Böden anaerobe Mikroorganismen an der Zellulosezersetzung wahrscheinlich nicht beteiligt sind, haben wir doch einige Versuche zur Anreicherung anaerober, nicht thermophiler Zellulosezersetzer aus Waldstreu bereits mit Erfolg durchführen können. Allerdings haben wir keine anaeroben Zellulosezersetzer gefunden, so lange wir bei diesen Versuchen die unveränderten A- und S-Lösungen, z. T. mit einem geringen Zusatz von Streuasche, verwendeten.

Die Nährlösungen — A mit $CaCO_3$ im Überschuß — wurden zu jeweils 50 ccm in 50 ccm fassenden Standkölbchen in hoher Schicht unter Luftabschluß gehalten. Als Energiematerial diente in einer Serie Filtrierpapier, in kleine quadratische Stückchen zerschnitten, in einer anderen ebenso zerkleinertes Cellophan, das von H. Krzemieniewska (23) erstmalig für Zellulosezersetzer mit Erfolg verwendet wurde. Geimpft wurde immer mit einigen Krümeln teilweise zersetzter Streu und zugehörigen Bodens.

Selbst nach mehrwöchentlicher Bebrütung bei + 20 bis + 25° C war in keinem Falle der mit B. W., B. Fk., F. W., F. H., K. W. und K. Fk. beimpften Kulturen eine einwandfreie Zellulosezerstörung festzustellen. Wenn mitunter ein Stückchen Filtrierpapier oder Cellophan leicht angegriffen war, so ist das vielleicht auf die zu Beginn des Versuches noch vorhandenen Mengen Luftsauerstoffs zurückzuführen. Es gelang jedenfalls nicht, aus solcher leicht angegriffenen Zellulose eine zellulosezersetzende Anaerobenkultur durch Überimpfung weiterzuzüchten. Einen regelrechten Zerfall der Zellulosestückchen, wie man ihn bei echter anaerober Zellulosezersetzung beobachtet, haben wir ebensowenig feststellen können, wie eine nennenswerte Zahl von Mikroorganismen. Wir müssen also schließen, daß unter den angewandten Versuchsbedingungen gedeihende anaerobe Zellulosezersetzer in den genannten Waldstreuproben nicht vorkommen.

Ganz anders war das Ergebnis, wenn in den Nährlösungen die anorganischen N-Quellen durch 1% Pepton ersetzt wurden. Bei diesen Versuchen haben wir außer den obengenannten Streuarten auch noch B. G. und F. G. hinzugezogen. Nach etwa 14 Tagen trat in den kalkhaltigen A-Lösungen,

die mit B. G. und mit F. W. beimpft worden waren, Gasbildung auf, und das Papier zerfiel dann auffallend rasch.

Eine Reinzucht der Zellulosezersetzer wurde noch nicht ausgeführt. Bei B. G. handelt es sich um plumpe Stäbchen mit endständiger Spore (Taf. I, Abb. 1) und bei F. W. hauptsächlich um schlankere Stäbchen, ebenfalls mit endständiger Spore (Taf. I, Abb. 2). Beide scheinen mit den von Omelianski (27) und Rubentschik (32) beschriebenen Formen verwandt oder identisch zu sein.

Jedenfalls geht aus den bisherigen Untersuchungen hervor, daß die Waldstreu auch anaerobe Zellulosezersetzer enthalten kann, daß diese aber wahrscheinlich nur in Gegenwart von Kalk (genügende Pufferung) und organischen N-Verbindungen am Zelluloseabbau beteiligt sind, wenn ihnen an örtlich begrenzten Stellen die Möglichkeit zur Entwicklung gegeben ist.

B. Aerobe Zellulosezersetzer.

1. Methodisches und Beobachtungen allgemeiner Art.

Der von uns verfolgte Arbeitsgang zwecks Isolierung aerober nicht thermophiler Zellulosezersetzer ist folgender: Aus der zu untersuchenden Waldstreu bzw. dem Waldboden wurden die Zellulosezersetzer zunächst angereichert, und zwar gewöhnlich nach der Methode von van Iterson (17) und seltener nach einer solchen, die als Kombination zwischen der Methode von G. Rossi (31) bzw. Cholodny (5) sowie derjenigen von Christensen (6) angesehen werden kann, und die wir deshalb kurz „kombinierte Methode" nennen wollen, oder nur nach dem Verfahren von Christensen.

Im ersteren Falle wurden 50 ccm steriler S- sowohl als auch A-Lösung in Erlenmeyer-Kolben von jeweils 300 ccm Inhalt mit einigen kleinen Stückchen der Streu und einer kleinen Messerspitze voll des zugehörigen Bodens beimpft[1]). Die Kolben enthielten außer der Lösung als einzige Kohlenstoffquelle ein größeres Stück Filtrierpapier von Schleicher und Schüll oder Cellophan, das in vielfachen Faltungen teils aus der Lösung herausragte, teils in diese eintauchte. So war den Zellulosezersetzern eine möglichst große Angriffsfläche geboten, zumal auf Grund der vorliegenden Beobachtungen aller anderen Autoren zu erwarten war, daß sich die streng aeroben Mikroorganismen vornehmlich am Rand der Flüssigkeit und unmittelbar darüber auf dem Papier bzw. Cellophan entwickeln würden.

Die kombinierte Methode bestand darin, daß ein mit einem Streifen Filtrierpapier bedeckter Objektträger mit dem Papier nach oben auf den Boden einer Petri-Schale gelegt und dann mit der zu untersuchenden Waldstreu überschichtet wurde. Nach Anfeuchten des Inhalts der Schale mit sterilem destillierten Wasser wurde diese zugedeckt und wie auch bei allen anderen Anreicherungsversuchen bei 20—25° C im feuchten Raum bebrütet. Nach einiger Zeit verfärbte sich das Papier in den Schalen unter den einzelnen Streuarten in für diese stets charakteristischer Weise, und zwar bei B. G. tief braun-gelb, bei B. W. violettbraun, bei B. Fk. hellgelb, bei F. W., K. W. und K. Fk. bunt (grün, rot, gelb) und bei F. H. gelblich bis grau. Die bunte Verfärbung deutete auf Pilze, die hellgelbe und graue auf Arten der Gattung Cytophaga (45), die tief braungelbe und die violettbraune auf Bakterien.

Sowohl mit dem einen als auch mit dem anderen Anreicherungsverfahren konnten wir aus K. W. und K. Fk. immer nur Pilze als Zellulosezersetzer herauszüchten, aus F. G., F. W., F. H., und B. Fk. Pilze und

[1]) Wenn in diesen Lösungen die anorganischen Stickstoffverbindungen durch Pepton ersetzt waren, kamen die gleichen Formen zur Entwicklung, außerdem aber auch so viele nicht-zellulosezersetzende Bakterien und Pilze, daß die Isolierung der Zellulosezersetzer sehr erschwert wurde.

Cytophagen und aus den basenreichsten Streuarten B. G. und B. W. hauptsächlich Bakterien und Cytophagen und weniger Pilze.

Ganz andere Resultate gab das dritte von uns benutzte Anreicherungsverfahren, dasjenige nach Christensen (6), bei dem das Papier auf der gut durchfeuchteten und möglichst eben ausgebreiteten Streu in einer Petrischale lag. Während wir bei den beiden anderen Methoden niemals einem Strahlenpilz begegnet sind, ist das Christensen-Verfahren dasjenige, das gerade Aktinomyceten und Pilze aus der Waldstreu reichlich zur Entwicklung kommen ließ. Es kann dies auf der geringeren Feuchtigkeit beruhen, die für das Wachstum von Zellulosezersetzern, worauf Dubos (7) schon hingewiesen hat, eine bedeutende Rolle spielt. Pilze und Aktinomyceten, welch letztere die Zellulose nicht angriffen, überwucherten das in Zersetzung begriffene Papier so stark, daß die Isolierung von zellulosezersetzenden Cytophagen oder Bakterien sehr erschwert wurde. Deshalb haben wir diese Methode auch nur einmal bei einem vergleichenden Versuch und sonst nicht wieder angewandt.

Wenn nach einigen Tagen oder Wochen das Papier oder Cellophan in den Petrischalen unter der Streu oder in den Nährlösungen — und hier hauptsächlich an der Flüssigkeitsoberfläche und unmittelbar darüber — unter charakteristischer Verfärbung der betroffenen Stellen angegriffen und teilweise zersetzt war, wurden von mehreren derartig gefärbten Flecken oder Zonen einige Platinösen voll in sterilem Wasser aufgeschwemmt und davon nach dem Verdünnungsverfahren Zellulose-Agarplatten gegossen[1]). Jedoch kamen wir dabei durchaus nicht immer zu Reinkulturen, vielmehr ließen sich solche nur von den zellulosezersetzenden Pilzen und Bakterien gewinnen und von einer Art der Gattung Cytophaga. Alle anderen von uns isolierten Cytophaga-Stämme sind mit einem Bakterium oder Pilz oder mehreren derartigen Begleitorganismen vergesellschaftet.

Wir haben uns zuerst auf die verschiedenste Weise bemüht, diese die Zellulose selbst nicht angreifenden Mikroorganismen aus den Kulturen zu entfernen. So haben wir, nachdem unzählige Plattengüsse mit Zelluloseagar nicht zum Ziele geführt hatten, und mit dem Mikromanipulator unter besonderen Schwierigkeiten gewonnene Einzell-Kulturen nicht angewachsen waren, unter anderem auch versucht, auf dem „negativen" Wege, den Winogradsky (28) bei der Isolierung nitrifizierender Bakterien beschritten hat, zu Reinkulturen zu kommen, indem wir von der Rohkultur Zelluloseagar-Platten gossen mit einem Zusatz von 0,5% Dextrose. Da die Begleitbakterien sich auf diesem Substrat sehr gut entwickelten, stachen wir zwischen den entstandenen Bakterienkolonien den Agar aus und übertrugen ihn auf Papierstreifen in Röhrchen mit Nährlösung in der Hoffnung, daß sich aus diesen bakterienfreien Partien die Cytophaga in Reinkultur entwickeln würde; oder wir brachten sterile Filtrierpapierstückchen auf die nicht bewachsenen Teile des Agars, preßten diese einige Sekunden auf die Agaroberfläche auf und übertrugen sie dann auf die Papierstreifen in gleicher Weise wie oben angegeben. Das Ergebnis war in allen Fällen negativ. Natürlich konnte das auch an der später noch zu erwähnenden Empfindlichkeit der Cytophagen gegenüber löslichen Kohlenstoffverbindungen gelegen haben. Aber auch nach der Verdünnungsmethode waren keine Reinkulturen zu gewinnen. Die Verdünnungen waren so bemessen, daß auf Grund mikroskopischer Kontrolle unbedingt hätte Wachstum stattfinden müssen. Wenn dieses zuweilen eintrat, dann wieder nicht in Reinkultur.

Am Ende blieb nur die eine Annahme übrig, daß die Gewinnung von Reinkulturen bei diesen Cytophaga-Arten einfach nicht möglich ist. Die Vermutung wurde uns zur Gewißheit, als wir von einem Verdünnungsplattenguß mit einer solchen Rohkultur nach dem Anwachsen der Kolonien

[1]) Pilze wurden durch Plattenguß mit verdünntem Würze-Agar reingezüchtet (ungehopfte Bierwürze 100, H_2O 100, 4 prozentiger Wasser-Agar 200).

eine einzelne von ihnen ausstachen, sie in sterilem Wasser aufschwemmten und davon abermals eine Plattenserie anlegten. Wir erhielten dann höchstens auf der ersten unverdünnten Platte einige wenige Kolonien, die zudem alle bakterienhaltige Mischkulturen darstellten. Bei einer Wiederholung dieses Verfahrens kam es öfter vor, daß auf den drei den Zellulosezersetzer in abgestufter Verdünnung enthaltenden Platten nicht eine einzige Kolonie entstand. Wohl aber bekamen wir eine Unzahl von Zellulosezersetzer-Kolonien unter sonst gleichen Bedingungen und bei Verwendung derselben Aufschwemmung, wenn ihr eine Öse voll der zuvor in Reinkultur erhaltenen mit dem Zellulosezersetzer vergesellschafteten Begleitorganismen zugesetzt worden war. Daraus dürfen wir schließen, daß die Entwicklung vieler Cytophaga-Stämme von der Gegenwart gewisser Begleitorganismen abhängig ist. Wir besitzen also von solchen Cytophagen keine Reinkulturen, sondern Symbiosekulturen, bestehend aus einer Cytophaga-Art und einer oder mehreren Arten von Symbionten, die meistens echte Bakterien sind.

von Gescher (11) sprach schon die Vermutung aus, daß Zellulosezersetzer nur in Symbiose mit anderen Mikroben leben könnten. Wahrscheinlich hat aber dieser Autor wie andere, die ähnliche Mitteilungen gemacht haben, nicht Symbiosekulturen, sondern verschiedene Entwicklungsstadien von Reinkulturen bestimmter Formen in Händen gehabt. Tetrault (42) ließ die Möglichkeit, daß der von ihm beschriebene thermophile Organismus auf Symbionten angewiesen ist, ebenfalls offen. Nach Abschluß unserer Versuche haben kürzlich auch Bojanovsky und Sznieszko die Mitteilung gemacht, daß die zellulosezersetzenden Mikroorganismen, mit denen sie gearbeitet haben, nur in Symbiose zu leben vermögen. Bojanovsky (3), der es mit eisenbedürftigen, zelluloselösenden Bakterien zu tun hatte, bringt jedoch für seine Behauptung keinen hinreichend überzeugenden Beweis, während Snieszko (39) und Snieszko u. Kimball (40) eindeutig nachweisen, daß ihr thermophiler Zellulosezersetzer nur dann die Zellulose angreift, wenn er sich in Symbiose mit Bakterien befindet, oder ihm statt dieser junge, lebende Hefe beigefügt wird, die dann allerdings bei der hohen Züchtungstemperatur abstirbt.

Nachdem wir erkannt hatten, daß eine Reinzucht der meisten Cytophagen nicht durchführbar ist, war die nächste Aufgabe, diese Zellulosezersetzer nach Möglichkeit mit jeweils einem einzigen bestimmten Begleitorganismus zu kombinieren. Als solchen wählten wir in der Regel immer einen von denjenigen, die wir in der durch mehrmaligen Plattenguß mit Zellulose-Agar angereicherten Rohkultur vorfanden. Die betreffenden Begleiter, meistens Bakterien, wurden von Bouillon- oder Möhren-Agarplatten in Reinkultur genommen und dann auf ihre Eignung als Symbionten für den Zellulosezersetzer geprüft, indem festgestellt wurde, welcher von ihnen die Zahl und Größe der Zellulosezersetzer-Kolonien auf Zellulose-Agarplatten am meisten förderte. Bei der dann folgenden Kombinierung des durch Plattenguß in der Rohkultur bereits angereicherten Zellulosezersetzers mit dem ausgewählten Symbionten wurde folgendermaßen verfahren: Jedem Röhrchen mit dem flüssigen Zellulose-Agar wurde vor der Beimpfung mit den Zellulosezersetzern der Begleitorganismus im Überschuß zugesetzt, so daß bei dem nach dem Verdünnungsverfahren ausgeführten Plattenguß auf der zweiten und dritten Platte wohl die Zahl der Cytophagen und der mit ihnen ursprünglich vergesellschafteten Mikroorganismen ab-

nehmen mußte, nicht aber die der in Reinkultur zugesetzten Symbionten. So war damit zu rechnen, daß auf der dritten Platte einzelne Cytophagen sich in Symbiose mit der zugefügten Reinkultur entwickeln würden.

Nach gewöhnlich ein- oder zweimaliger Wiederholung dieses Verfahrens mit einer jedesmal von der dritten Platte ausgestochenen Kolonie wurden einige solcher auf Papierstreifen in Röhrchen mit Nährlösung übertragen. Nach dem Anwachsen wurde hiervon wieder eine Plattenserie mit Bouillon- und Möhren-Agar angelegt, um festzustellen, ob die Symbiosekultur wirklich nur eine Art von Begleitorganismen enthielt. Diejenigen Kulturen, bei denen dieses zutraf, und bei denen auch die mikroskopische Kontrolle nichts anderes ergab, wurden als Symbiosekulturen aufbewahrt und für die Untersuchungen benutzt.

Es hat sich aber bei einigen später gezüchteten Cytophaga-Arten herausgestellt, daß das genannte Ziel mit dieser Methodik nicht immer zu erreichen ist, daß vielmehr nach ein oder zwei Plattenguß-Serien entweder trotz Zusatz etwa einer Bakterienart keine Zellulosezersetzer-Kolonien mehr entstanden, oder die nach vielen Plattenguß-Serien abgeimpften Kolonien Kulturen ergaben, die immer noch zwei oder drei verschiedene Arten in der Begleitflora enthielten. Auf Grund dessen muß angenommen werden, daß es wohl mitunter gewisse Begleitorganismen gibt, die allein imstande sind, bestimmten Cytophagen geeignete Lebensbedingungen zu schaffen, andere Symbionten aber allein nicht ausreichen, sondern in solchen Fällen offenbar das Zusammenwirken von zwei oder drei verschiedenen notwendig ist. Wo es uns gelang, die anfänglich zahlreich vorhandenen Arten einer Begleitflora bis auf eine Art zu beseitigen, da hat diese Maßnahme manchmal eine Schwächung der zellulosezersetzenden Kraft dieser Kultur zur Folge gehabt, so daß wir uns nun bemühten, solchen Kulturen nachträglich wieder einen zweiten oder auch dritten geeigneten Symbionten zuzufügen. Deshalb war es in solchen schwierigen Fällen das beste, sämtliche ursprünglichen Symbionten durch einen neuen, der allein ausreichte, zu verdrängen, sofern sich die Möglichkeit hierzu bot.

Entwicklungszyklus und Morphologie einiger Arten der aeroben Zellulosezersetzer untersuchten wir meistens im hängenden Tropfen mit der der jeweiligen Art am besten zusagenden Nährlösung und mit nach Scales (35) gefällter Zellulose oder mit Cellophan. Die für die Tropfen bestimmte Nährlösung, gegebenenfalls mit darin aufgeschwemmter Zellulose, wurde vor der Verwendung im Röhrchen ausreichend, jedoch nicht zu stark, beimpft. Bei Verwendung von Cellophan übertrugen wir kleine, zuvor in einer Petrischale sterilisierte Stückchen desselben mit Hilfe einer sterilen angefeuchteten Platinnadel in die hängenden Tropfen; oder aber wir setzten ein. sehr kleines Tröpfchen 0,7proz. A- oder S-Agars auf das Deckgläschen, breiteten es mit einer feinen Platinöse gleichmäßig aus, gaben hierauf ein gleichgroßes Tröpfchen der Cytophaga-Aufschwemmung, die wir, sofern wir B. Fk. 1 verwendeten (siehe S. 47), zuvor 10 Min. lang in einem Wasserbad von 55 oder 60° C erhitzt hatten, und schließlich ein Stückchen Cellophan. Der Nährsalzagar wurde manchmal durch Zelluloseagar ersetzt. Das Deckglas mit dem flüssigen oder Agar-Hängetropfen wurde einem hohlgeschliffenen Objektträger aufgelegt, nachdem die Höhlung unmittelbar vorher angehaucht und ihr Rand zwecks Abdichtung mit flüssigem Paraffin bestrichen worden war. Die Ent-

wicklung der Cytophagen und Bakterien in den Tropfen wurde im Hell- oder Dunkelfeld verfolgt[1]).

Um charakteristische Entwicklungsstadien im Bilde festhalten zu können, ließen wir die Hängetropfen durch Abheben des Deckglases antrocknen, fixierten leicht über der Flamme und färbten dann entweder mit Erythrosin-Gentianaviolett nach Winogradsky (45) oder seltener mit Methylenblau, teils unter Zusatz von Alkali (41). In einem Falle wurde auch lebendes Material im Dunkelfeld photographiert.

Dank der hierfür besonders geeigneten Dunkelfeldbeobachtung konnte an einigen vermeintlich reinen Kulturen im Hängetropfen die Feststellung gemacht werden, daß sie mit einem sehr sonderbaren Fremdorganismus verunreinigt waren, dessen Zellbreite noch geringer ist als die der Cytophagen und nahe an der Grenze der Sichtbarkeit liegt, und der dann durch erneute Plattengüsse aus den Kulturen beseitigt wurde. Von der Existenz eines solchen Mikroorganismus war uns vordem nichts bekannt. Er hatte die Form eines etwa 3—6 μ langen Fadens mit rechtwinklig nach gleicher Seite abgebogenen und sehr fein zugespitzten Enden, und war ebenso wie die Cytophagen sehr biegsam. Im Gegensatz zu diesen vermochte er sich aber durch schnelle Umdrehung um die eigene Längsachse langsam fortzubewegen, wobei die Rotationsfigur an eine Sanduhr erinnerte. Leider ließ er sich ohne die Zellulosezersetzer nicht züchten.

Auf den Zellulose-Agarplatten wachsen die Cytophagen und zellulosezersetzenden Bakterien nicht in der für gewöhnliche Bakterien üblichen Kolonieform, sondern in einer Art von Kolonien, die nur aus einem mehr oder weniger aufgehellten, sich ständig vergrößernden runden Fleck in dem durch Zellulose getrübten Agar bestehen. Dieser scheint im Bereich der Kolonien etwas eingesunken, was wohl auf das Verschwinden der Zellulose zurückzuführen ist. Jedenfalls konnte eine Lösung des Agars nicht nachgewiesen werden.

Einzelne Kolonien der durch Plattenguß erhaltenen Reinkulturen bzw. Symbiosekulturen wurden in Reagenzröhrchen auf Filtrierpapier-Streifen unmittelbar oberhalb der Nährflüssigkeit abgeimpft, in die das Papier mit dem unteren Teil eintauchte.

Dieses schon von anderen Autoren benutzte Verfahren hat sich auch bei unseren Arbeiten bestens bewährt. Die streng aeroben Mikroorganismen können auf dem Papier in jener Zone wachsen, die ihnen bezüglich Feuchtigkeit und Sauerstoffversorgung optimale Bedingungen bietet, nämlich unmittelbar an der Flüssigkeitsoberfläche und bis zu etwa 1 cm darüber. Allerdings ist zu beachten, daß es nicht gleichgültig ist, welches Filtrierpapier verwendet wird. Bei unseren zahlreichen Kulturversuchen sind uns verschiedentlich Papiersorten begegnet, auf denen die Zellulosezersetzer weniger gut gediehen. Wir haben auch versucht, unsere Kulturen auf einer im Kaiser-Wilhelm-Institut für Faserstoffchemie hergestellten sog. künstlichen Zellulose zu züchten, die sich dadurch auszeichnet, daß sie besonders stark Wasser aufsaugt und festhält. Jedoch war die Verwendung für unsere Zwecke nur möglich, wenn die Zellulose vorher mehrere Male stundenlang in heißem Wasser ausgelaugt wurde. Auch dann war das Wachstum bei einigen Arten immer noch etwas schlechter als auf Papier. Auf mit Nährlösung getränkter reiner Watte zu kultivieren, bot ebenfalls keine Vorteile, sondern eher Nachteile wegen der verhältnismäßig trockenen Oberfläche und der beim Impfen hinderlichen langen Fasern, so daß wir bei dem oben geschilderten Verfahren mit Papierstreifen geblieben sind.

Der thermale Tötungspunkt aerober Zellulosezersetzer wurde stets derart ermittelt, daß wässerige Aufschwemmungen der betreffenden Kultur in einem

[1]) Für die Dunkelfeldbeleuchtung benutzten wir den Zeiss'schen Präparier-Kondensor für mittlere Objektive.

engen, dünnwandigen Röhrchen, sog. Sporentötungsröhrchen, bei bestimmten konstant gehaltenen Temperaturen im Wasserbad 10 Min. lang erhitzt und dann sofort unter fließendem Wasser abgekühlt wurden. Von dem so behandelten Material gelangten mehrere Platinösen voll einzeln in eine Petri-Schale auf Zelluloseagar. Handelte es sich um eine Symbiose-Kultur, dann war es nötig, den Agar vor dem Ausgießen in die Schale ausreichend dicht mit den Begleitorganismen zu beimpfen. Ebenso wurden die übrigen Kardinalpunkte der Temperatur für diese Formen unter Berücksichtigung ihrer Symbionten bestimmt.

2. Zellulosezersetzende Pilze.

Wir wollen vorwegnehmen, daß wir bei unseren Untersuchungen keinen einzigen zellulosezersetzenden Strahlenpilz angetroffen haben. Darin stimmen unsere Ergebnisse mit denen von Waksman und Skinner (44) überein, die sich dahin äußern, daß Aktinomyceten bei der Zellulosezersetzung im Boden keine unmittelbare Rolle zu spielen scheinen.

Die sehr schwierige Isolierung und Untersuchung von gegebenenfalls am Zelluloseabbau beteiligten Hymenomyceten des Waldes, die für die Streuzersetzung wahrscheinlich nicht bedeutungslos sind, haben wir vorläufig ebenso wie diejenige der Myxomyceten zurückgestellt. Dagegen wurde eine ganze Reihe von Ascomyceten und Hyphomyceten isoliert. Es würde jedoch zu weit führen, wollten wir alle die Aspergillaceen und anderen Pilze aufführen, die wir mit unseren geschilderten Verfahren verhältnismäßig selten aus dieser oder jener Streu gelegentlich anreichern konnten, oder deren zellulosezersetzende Fähigkeit zu gering ist, um überhaupt Beachtung zu verdienen. Hier sollen nur die Arten Erwähnung finden, die entweder in unseren Anreicherungskulturen fast regelmäßig aufgetreten sind, und denen wegen dieser offenbar stärkeren Verbreitung in Böden und Streu verschiedener Wälder eine gewisse Bedeutung zukommt, oder die uns durch besonders energische Zellulosezerstörung aufgefallen sind. Aber selbst diese die Zellulose ziemlich schnell abbauenden Pilze werden in der natürlichen Mikrobenmischung der Waldstreu kaum oder nur selten als Zellulosezersetzer tätig sein. Denn auch sie lassen die Zellulose fast oder ganz unberührt, wenn ihnen gleichzeitig wasserlösliche C-Verbindungen zur Verfügung stehen.

Trichoderma.

Zu den unter den obwaltenden Kulturbedingungen schwach wirksamen Zellulosezersetzern gehören zunächst die beiden sehr häufigen Arten der Gattung Trichoderma, nämlich Trichoderma lignorum Tode und Trichoderma Koningi Oudemans. Sie wurden hauptsächlich in der Nadelstreu beobachtet und konnten bei den stärker saueren Streu- und Rohhumus-Proben K. Fk. und F. H. schon in den Aufbewahrungsschalen auf der Streu wachsend und Konidien bildend in großer Menge festgestellt werden. Stets haben wir sie nach der Methode von van Iterson (17) auf Zellulose oder Cellophan in S-Lösung aus K. Fk. und F. H. und auch aus den beiden entsprechenden, aber sich gut zersetzenden Streuarten K. W. und F. W. anreichern können. Zuweilen wurden sie auch in saueren Anreicherungskulturen angetroffen, die mit B. Fk. oder B. W. beimpft worden waren. Die Pilze scheinen ihre optimalen Bedingungen in der Nadelstreu und hier wieder besonders in der stark saueren, zur Rohhumusbildung neigenden Streu zu finden. Die basenreichere Laubstreu, vor allem die von besonders basenreichen Böden, scheint ihnen nicht recht zuzusagen. Dementsprechend gelang die Anreicherung mit der schwach

alkalisch reagierenden A-Lösung nicht, wie auch beide Arten in Reinkultur die Zellulose nur in der saueren S-Lösung angreifen und nicht in der schwach alkalisch reagierenden A-Lösung. Ihre zellulosezersetzende Fähigkeit unter den eingangs erwähnten Versuchsbedingungen ist sehr gering, sogar noch schwächer als bei den Penicillien, und bei Trichoderma Koningi noch etwas geringer als bei Trichoderma lignorum. Sie werden hier nur erwähnt, weil sie allgemeiner bekannt, als Zellulosezersetzer verschiedentlich erwähnt (43) und in Waldstreu reichlich vertreten sind.

Wenn diese beiden Pilze bei Kultur auf Würzeagar nicht sporulieren wollten, konnten wir sie meistens dadurch zur Konidienbildung veranlassen, daß wir den Agar mitsamt dem Myzel anritzten. Entlang diesem Riß entstanden dann nach 1—2 Tagen massenhaft die für die Bestimmung der Art (29) unerläßlichen Sporen. Da eine Verwechslung beider Arten wohl nicht in Frage kommt, erübrigt sich eine nähere Beschreibung.

Penicillium.

Die 4 Penicillium-Arten, die hier zu nennen wären, haben in unseren Versuchen Zellulose stärker angegriffen als Trichoderma, gleichen aber dieser Gattung insofern, als sie auch nur in der saueren S-Lösung auf Papier wachsen, nicht in A-Lösung. Wahrscheinlich sind sie mit einigen der Arten identisch, die schon von anderen Autoren erwähnt und z. B. von Thaysen und Bunker (43) als Zellulosezersetzer aufgeführt sind.

Penicillium 1 wurde aus K. W. und F. W. isoliert. Auf Papier in S-Lösung werden reichlich grüne Konidien gebildet. Die grünen, unterseits farblosen Pilzrasen auf Würzeagar haben einen außen weiß und nach dem Inneren der Kolonie zu gelblich-grün gefärbten Saum. Auf den an der Spitze pinselförmig verzweigten Konidienträgern werden die runden, schwach warzigen Konidien in nicht sehr langen divergent gerichteten Ketten gebildet. Auf Grund einer vorläufigen Bestimmung würde die Art vielleicht als Penicillium lanosum Westling zu bezeichnen sein, die auch von Scales (34) als Zellulosezersetzer beschrieben ist.

Penicillium 2 sieht im reifen Stadium auf Papier sowohl als auf Würzeagar bräunlich aus. Die Farbe der äußersten sterilen Zone der unterseits farblosen Kolonien auf Würzeagar ist weiß, diejenige der nach dem Innern zu folgenden, mit jungen Konidien besetzten graugrün, während das mit reifen Konidien besetzte Zentrum des Rasens graubraun bis braun gefärbt ist. Die reichverzweigten Konidienträger tragen die runden, warzigen Konidien in verhältnismäßig kurzen, divergent gerichteten Ketten. Unter den von Scales (34) als Zellulosezersetzer erwähnten Arten steht Penicillium chrysogenum Thom dieser Form am nächsten.

Penicillium 3 aus B. Fk., F. W. und K. W. färbt das Papier gelb, während der Konidienrasen grau gefärbt ist mit einem leichten grünlichen Schein. Die Unterseite der ebenfalls grauen Konidien auf Würzeagar ist braungelb gefärbt. Als kurze Seitenzweige der Lufthyphen entstehen die meist unverzweigten Konidienträger mit den Ketten von glattwandigen ovalen bis runden Konidien. Auf Grund einer vorläufigen Bestimmung nach Thaysen und Bunker (43) wäre diese Art als Penicillium intricatum Thom zu bezeichnen, die auch in den Versuchen von Scales Zellulose zersetzt hat.

Penicillium 4 wurde des öfteren in F. H., aber niemals in den anderen Streuarten angetroffen. Die Pilzrasen auf Papier und Würzeagar haben einen breiten sterilen Saum und sind im konidientragenden Teil hell-blaugrün, später mehr graugrün gefärbt. Die Unterseite der Kolonien ist farblos. Die sehr langen parallel gerichteten Ketten von ziemlich verschieden großen, runden, glattwandigen Konidien stehen auf den verhältnismäßig langen und wenig verzweigten Konidienträgern. Diese Art ist vielleicht identisch mit dem ebenfalls von Scales als Zellulosezersetzer genannten Penicillium notatum Westling.

Eine genaue Bestimmung der hier aufgeführten Penicillien wird später vorgenommen.

Chaetomium spirale Zopf.

Eine Art der Gattung Chaetomium wurde schon von van Iterson (17) als Zellulosezersetzer erwähnt, und Sée (36) nennt auch eine ganze Reihe anderer Chaetomium-Arten, die Zellulose angreifen. Der von uns aus F. H. isolierte Pilz wurde nach Rabenhorst (29) bestimmt. Auf Papier werden in S-Lösung und mehr noch in A-Lösung die oliv-braunen Perithezien gebildet, während das Myzel und das zersetzte Papier farblos bis schmutzig grau aussehen. Die rundlich eiförmigen Perithezien sind auf der ganzen Oberfläche mit olivfarbenen Borsten bedeckt und tragen an der Spitze einen ebenso gefärbten Schopf von spiralig eingerollten Haaren. Die keulenförmigen Asci enthalten 8 braune, spindelförmige Sporen. Dieser Ascomycet unterscheidet sich mit den noch zu erwähnenden Hyphomyceten sehr wesentlich von den Trichoderma- und Penicillium-Arten dadurch, daß er die Zellulose besonders energisch in A-Lösung und weniger stark in S-Lösung angreift.

Hyphomyceten.

Von den drei Hyphomyceten, die wir in unseren Kulturen häufiger angetroffen haben, konnten Dicoccum asperum Corda aus K. W., F. W., K. Fk. und F. H. und Melanogone puccinioides Wollenweber et Richter aus B. W., K. W., und F. H. isoliert werden. Dagegen haben wir den dritten und hinsichtlich seiner zellulosezersetzenden Fähigkeit bemerkenswertesten Hyphomyceten, Cephalosporium curtipes Sacc. nur aus K. W. herauszüchten können, hier allerdings stets in größerer Zahl. Wie schon hervorgehoben wurde, vermögen diese drei Pilze ebenso wie Chaetomium spirale die Zellulose in A-Lösung besser als in S-Lösung anzugreifen. Wenn Jensen (18) über seinen zellulosezersetzenden Pilz von „ungewöhnlicher Eigenschaft" berichtet, daß er die Zellulose nur bei neutraler bis alkalischer Reaktion angreift und nicht bei sauerer, so kann das nach unseren Beobachtungen jetzt nicht mehr als ungewöhnlich bezeichnet werden. Denn Chaetomium spirale, Dicoccum asperum und Melanogone puccinioides verhalten sich ähnlich, und Cephalosporium curtipes unterscheidet sich in dieser Hinsicht überhaupt nicht von Jensens Botryosporium.

Dicoccum asperum Corda, schon von van Iterson (17) als Trichocladium asperum zu den aeroben Zellulosezersetzern gezählt, wächst auf Papier mit schwärzlich-grauer Farbe, indem dieses in der Nähe der Flüssigkeitsoberfläche in A-Lösung schwarz und in S-Lösung

grünlich-schwarz verfärbt wird. Auf Würzeagar sehen die Pilzrasen mit olivgrüner Unterseite und teils schwärzlich-grauer, teils bräunlicher Oberseite ähnlich aus. Die in der Jugend hyalinen einzelligen, dann zweizelligen, braunen und schließlich schwarzen, außen granulierten Konidien sitzen einzeln auf kurzen Seitenästen der Hyphen. Im jugendlichen Zustand ist die untere Zelle der Konidien oft kleiner als die obere und nach unten verjüngt. Vereinzelt werden auch dreizellige Sporen gebildet. Der Pilz wurde nach Rabenhorsts Kryptogamenflora bestimmt.

Melanogone puccinioides Wollenweber et Richter n. sp.[1]), in Laub und Nadelstreu offenbar weit verbreitet, überzieht das Papier in A-Lösung mit grauem Luftmyzel. Von der Rückseite betrachtet, sieht der Papierstreifen in der Nähe der Flüssigkeit schwarz aus, darüber grau und noch höher gelblich. In S-Lösung nimmt das Ganze eine dunkel olivgrüne Farbe an.

Cephalosporium curtipes Sacc. wächst auf Würzeagar langsam und farblos bis grauweiß, nur in der Mitte der Kolonie etwas zottiges Luftmyzel bildend. Die länglichen, ca. 9 μ langen und 2—4 μ breiten Konidien sitzen aneinanderhaftend in Köpfchen auf den kurzen als einfache Seitenzweige entstehenden Konidienträgern. Der Pilz ist nur in A-Lösung und auf alkalischem Zelluloseagar isoliert worden und greift das Papier auch nur in A-Lösung dem bloßen Auge erkennbar an, während in S-Lösung keine makroskopisch sichtbare Zellulosezerstörung festgestellt werden konnte. Das Papier wird in A-Lösung ohne jegliche Verfärbung am Flüssigkeitsrand und unmittelbar darüber in eine durchscheinende, häutige Masse verwandelt. Dieses Verhalten des Pilzes erweckt bei flüchtiger Betrachtung den Anschein, als sei die von ihm angegriffene Zellulose von einer Cytophaga-Art zersetzt. Vielleicht ist es kein Zufall, daß gerade dieser Pilz mit diesen Eigenschaften nur aus K. W. isoliert werden konnte, einer Streuart von verhältnismäßig gutem Boden und mit guter Zersetzungsfähigkeit, in der wir aber andererseits keine zellulosezersetzenden Bakterien oder Cytophagen entdecken konnten. Es scheint fast, als ob der Pilz die Rolle dieser hier fehlenden Mikroorganismen zu einem großen Teil versieht.

3. Zellulosezersetzende Bakterien.

Bis jetzt wurden insgesamt nur zwei zellulosezersetzende Bakterienarten isoliert, und zwar beide gewiß nicht zufälligerweise aus den basenreichsten und am besten sich zersetzenden Streuproben, nämlich B. G. und B. W. Sie sind als Vibrionen in die von Winogradsky (45) aufgestellte Gattung Cellvibrio einzureihen[2]). Beide scheinen in Böden mit mäßigem bis hohem Kalkgehalt, aber auch nur in solchen, sehr verbreitet zu sein. Nicht nur, daß wir sie des öfteren aus der genannten Laubstreu anreicherten, sondern offenbar sind sie schon Dubos (8) bei seinen Arbeiten, die er 1928 veröffentlicht hat, begegnet. Möglicherweise hat auch Winogradsky diese Bakterien in Händen gehabt. Sie konnten durch Platten-

[1]) Die genaue Beschreibung dieses Pilzes findet sich in einer gleichzeitig im Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 90 erscheinenden Mitteilung von Wollenweber und Richter, S. 74.

[2]) Während der Drucklegung dieser Arbeit gelang es uns, noch einen dritten Cellvibrio zu züchten, und zwar aus Ebereschenstreu, der das angegriffene Filtrierpapier grünlichgelb verfärbt.

guß mit dem eingangs beschriebenen Zelluloseagar ohne weiteres in Reinkultur gebracht werden.

Die Art der Zellulosezerstörung ist dadurch gekennzeichnet, daß sie von einem raschen breiigen Zerfall des Papiers begleitet ist und kein Schleim gebildet wird, der die Masse zusammenhalten könnte, wodurch der Papierstreifen an der Flüssigkeitsoberfläche sehr bald bei geringer Bewegung auseinanderfällt.

B. W. 1[1]).

(Cellvibrio fulva n. sp.)

Dieser Mikroorganismus ist 1,5—3 × 0,3—0,4 μ groß, schwach gekrümmt, gramnegativ und wie alle typischen Vibrionen eingeißelig (Taf. I, Abb. 3). Er wächst auf Filtrierpapier mit intensiv eigelber Farbe, die sich in älteren Kulturen bis rostbraun vertiefen kann.

Das Temperaturminimum, -optimum und -maximum ist + 5° C (nach 11 Tagen kein Wachstum) bzw. + 25 bis + 30° C bzw. + 32 bis + 35° C. Bei + 35° C findet auf Papier kein Wachstum mehr statt. Der thermale Tötungspunkt liegt zwischen + 39 und + 40° C.

B. W. 1 wurde in A-Lösung auf Cellophan und auf Papier angereichert. Er gedeiht in S-Lösung ebensogut wie in A-Lösung, wenn erstere Nitrat anstatt Ammonsalz enthält, nicht aber bei Gegenwart von Ammonsulfat als Stickstoffquelle, auch dann nicht, wenn dieses gesondert sterilisiert und darauf einer alkalischen Nährlösung mit K_2HPO_4 von sonst unveränderter Zusammensetzung zugefügt worden ist. Dieses Verhalten wurde auch bei anderen nichtpilzlichen Zellulosezersetzern beobachtet und findet vielleicht eine einfache Erklärung in der Abspaltung von Schwefelsäure und demzufolge in einem Absinken des ph-Wertes beim Verbrauch des Ammonstickstoffes, während sich bei Nitratassimilation der umgekehrte Vorgang abspielt. Eine Übersicht über diese Daten, die in A- und S-Lösungen, teils mit den gegenseitig ausgetauschten Stickstoffverbindungen gewonnen wurden, mit den zugehörigen ph-Werten findet sich in der folgenden Tabelle[2]).

Tab. 2. Einfluß von Stickstoffquelle und Reaktion auf die Zellulosezersetzung durch B. W. 1.

Nährlösung	7 Tage bei 26° C			
	$NaNO_3$ K_2HPO_4	$NaNO_3$ KH_2PO_4	$(NH_4)_2SO_4$ K_2HPO_4	$(NH_4)_2SO_4$ KH_2PO_4
Anfangs-ph	7,4	6,1	7,1	5,9
End-ph	7,4	7,1	6,3	6,0
Papierzersetzung	gut	gut	keine	keine

Für B. W. 1 war es nicht völlig gleich, ob die Nährlösungen mit destilliertem oder mit Leitungswasser angesetzt wurden. In ersteren blieben die Kulturen mehr hellgelb und wurden nicht rostbraun. Außerdem schien hier der Abbau der Zellulose nicht ganz so energisch zu verlaufen wie in Leitungswasser-Nährlösungen, von denen die mit Potsdamer Leitungswasser

[1]) Diese Abkürzungen wurden für die aeroben Vibrionen und Cytophagen gewählt. Es bedeutet also B. W. 1 die erste Kultur aus Streu von Buche Wannsee, B. Fk. 2 die zweite Kultur aus Streu von Buche Finkenkrug usf.

[2]) Wenn nichts anderes angegeben, sind alle Kulturversuche in Röhrchen mit Filtrierpapierstreifen und den jeweiligen Nährlösungen ausgeführt worden.

noch besser wirkten als diejenigen mit Dahlemer Leitungswasser. Weit deutlicher als auf die Art des verwendeten Wassers reagierte das Bakterium auf die chemische Beschaffenheit des Filtrierpapiers. Bestes Wachstum mit starker Zellulosezersetzung haben wir immer nur auf einem gewöhnlichen, in Bogen käuflichen Filtrierpapier erreicht, während aschefreies Papier bei nur hellgelber Verfärbung schwächer angegriffen wurde. Die Asche des gewöhnlichen Papiers hat jedoch, einer Nährlösung mit aschefreiem Papier zugesetzt, die Zerstörbarkeit und Färbung desselben durch B. W. 1 nicht beeinflußt.

Der Vibrio kann Cellophan ebensogut verwerten wie die Zellulose des Filtrierpapiers. Eine ausgezeichnete Kohlenstoffquelle ist außerdem wasserlösliche Stärke, die bei Gegenwart von Zellulose bevorzugt wird. Andere wasserlösliche Kohlenstoffverbindungen kommen offenbar als Energiequelle nicht oder nur in Ermangelung von Zellulose oder Stärke in Betracht. So ist das Wachstum auf mit Soda neutralisiertem Möhren-, Kartoffel- oder Würzeagar denkbar schlecht. Auf ihnen entwickelt sich lediglich ein sehr dünner, hellgelber Belag. Beim Plattenguß mit Möhrenagar erhielten wir nur selten Kolonien und dann auch nur einige wenige. Auf sterilisierten Möhren- und Kartoffelscheiben wuchs B. W. 1 überhaupt nicht, auf Bouillonagar meistens auch nicht. Viele Kohlenstoff- wie auch organische Stickstoffverbindungen üben sogar einen hemmenden Einfluß auf die Zellulosezersetzung aus. Z. B. wuchsen bei einem Plattenguß mit 10proz. Gelatine, die A-Lösung mit gefällter Zellulose enthielt, wohl zahlreiche Kolonien an, diese blieben aber winzig klein. Ferner geht aus Tabelle 6 hervor, daß die meisten der geprüften Kohlenstoffverbindungen in den höchsten verwendeten Konzentrationen auf die Papierzersetzung mehr oder weniger stark hemmend gewirkt haben, und zwar am stärksten Raffinose. Dagegen hat Saccharose bis zu 1% überhaupt nicht geschädigt. Während bei 1% Azetat, Mannit, Dextrose und Raffinose eine Schädigung der Bakterien angenommen werden muß, ist die Zellulose bei Stärkezusatz nur deswegen schlechter angegriffen worden, weil die Stärke, als Kohlenstoffquelle von den Bakterien verwendet, die Zellulose vor dem Abbau geschützt hat. Diese Schlußfolgerung ist berechtigt wegen des starken Wachstums der Bakterien ausschließlich in den stärkehaltigen Lösungen.

Über den hemmenden Einfluß wasserlöslicher Zellulose-Abbauprodukte auf die zellulosezersetzende Tätigkeit von B. W. 1 geben die Daten in Tabelle 7 Auskunft. In der Konzentration von 1% haben diese Stoffe die Zellulosezersetzung durch B. W. 1 vollständig unterbunden.

Der unterschiedliche Wert einiger Verbindungen als Stickstoffquelle für B. W. 1 ist den Tab. 8 und 9 zu entnehmen. Auffallend ist zunächst bei gleichzeitiger Anwesenheit von Nitrat die stark schädliche Wirkung des Ammonsulfates (vgl. S. 60). Die Empfindlichkeit des Zellulosezersetzers gegenüber wasserlöslichen organischen Stoffen wird durch sein Verhalten zu α-Alanin und asparaginsaurem Natrium erneut unter Beweis gestellt. Beim Ersatz des Nitrats durch andere Stickstoffquellen zeigt es sich, daß außer Harnstoff in geringer Konzentration die dargebotenen organischen Stickstoffverbindungen ganz oder fast vollständig unbrauchbar sind. Daß bei Asparagin und Pepton gerade die höchste der Konzentrationen ein wenn auch nur schwaches Wachstum ermöglichte, könnte seinen Grund — wenigstens beim Pepton — in der durch die Sterilisation veranlaßten Entstehung von Zerfallsprodukten haben, die das Bakterium

vielleicht bis zu gewissem Grade als Stickstoffquelle verwerten kann. Das zeigt die folgende Tab. 3.

Tab. 3. Einfluß verschiedener Peptonkonzentrationen und der Sterilisation auf die Zellulosezersetzung in nitratfreier A-Lösung durch B. W. 1.

Konzentration der N-Quelle	7 Tage bei 26° C. Stärke der Papierzersetzung	
	bei + 135° C sterilis. Nährlösung	bei + 100° C sterilis. Nährlösung
—	kein Wachstum	kein Wachstum
0,05% $NaNO_3$ . . .	sehr gut	sehr gut
0,5% Pepton . . .	sehr gering	kein Wachstum
1% Pepton	deutlich	gering
2% Pepton	gut	deutlich
3% Pepton	etwas weniger gut	deutlich

B. W. 1 ist gegen Austrocknung sehr widerstandsfähig. Von einer Röhrchenkultur mit weitgehend zersetztem Papier wurde die Nährlösung abgegossen und das mit Wattestopfen verschlossene Röhrchen im Exsikkator über Chlorcalcium 30 Tage lang aufbewahrt. Von dieser gänzlich eingetrockneten Kultur wurde dann nach Anfeuchten mit sterilem Wasser etwas in ein neues Röhrchen verimpft mit dem Erfolg, daß sich das Papier gelb färbte und oberhalb der Flüssigkeit vollständig zerfiel.

Die von Dubos (8) gegebene Beschreibung seines zellulosezersetzenden Bakterienstammes „Y" gleicht den Eigenschaften dieses von uns aus Waldstreu isolierten Vibrio so vollkommen, daß wir im Hinblick auf die offenbar weite Verbreitung dieser Art die Identität beider Formen annehmen müssen. Ob mit ihnen auch eine der von Winogradsky (45) gezüchteten Cellvibrio-Arten übereinstimmt, kann wegen der unzureichenden Beschreibung derselben nicht entschieden werden. In Anbetracht der intensiv bräunlich-gelben Farbe der Zellulosekultur dieses von Dubos und uns isolierten Vibrio schlagen wir vor, ihn Cellvibrio fulva zu nennen.

B. W. 2.

(Cellvibrio vulgaris n. sp.)

Der andere der beiden zelluloszersetzenden Vibrionen ähnelt dem eben beschriebenen sehr stark in seinem morphologischen und kulturellen Verhalten und kann deshalb hier kürzer behandelt werden. Am augenfälligsten unterscheidet er sich von Cellvibrio fulva dadurch, daß er das Filtrierpapier gänzlich farblos, sonst aber in gleicher Weise zersetzt. Abgesehen von den meistens etwas längeren Stäbchen (2—4 μ) bei B. W. 2 ist morphologisch zwischen beiden Arten kein deutlicher Unterschied festzustellen. B. W. 2 wurde in A-Lösung auf Filtrierpapier angereichert und konnte außerdem in einer aus Ackererde gewonnenen Rohkultur, die uns Herr Prof. Rippel-Göttingen freundlicherweise zur Verfügung stellte, nachgewiesen werden. Obwohl sich dieser Vibrio fast in jeder Anreicherungskultur mit den basenreichen Laubstreuarten B. G. und B. W. entwickelte, haben wir ihn ebenso wie Cellvibrio fulva in allen anderen Streuarten kein einziges Mal beobachten können. Die Rohkulturen von B. W. 2, aus B. W. gewonnen, waren auf Papier in A-Lösung sowohl als auch unter der Streu in Petrischalen stets charakteristisch violettbraun ge-

färbt. Später haben wir B. W. 2 auch aus einer orange gefärbten Rohkultur von B. G., die neben verschiedenen Bakterien noch eine Cytophaga-Art enthielt, herauszüchten können. Das zeigt, daß der Farbe einer Rohkultur von Zellulosezersetzern und somit der von Winogradsky (45) veröffentlichten Farbtafel kein allzu großer diagnostischer Wert beizulegen sein dürfte.

Die Kardinalpunkte der Wachstumstemperatur sind dieselben wie bei Cellvibrio fulva. Nur der thermale Tötungspunkt liegt etwas höher, nämlich zwischen + 44 und + 45° C.

Auch gegenüber der Reaktion der Nährlösung und gegenüber Austrocknen am zersetzten Papier verhalten sich beide Vibrio-Arten gleich.

Ernährungsphysiologisch ist B. W. 2 allerdings in einigen Punkten etwas anders geartet: Auf schräg erstarrtem Möhrenagar z. B. wächst er etwas besser als Cellvibrio fulva, und zwar stark schleimig und wie auch auf fast allen anderen geprüften Nährböden farblos. Nur auf solchen Substraten, die wasserlösliche Stärke als Kohlenstoffquelle enthielten, waren die Kulturen schwach gelblich gefärbt. Dieses charakteristische Verhalten ist auch von Dubos (8) für sein Bakterium „Co" erwähnt worden. Stärke schützt die Zellulose vor der Zerstörung durch B. W. 2 ebenso wie durch Cellvibrio fulva. In Papierröhrchen mit 0,05% $NaNO_3$ und 1% Natriumasparaginat wächst B. W. 2 auf dem Papier am Flüssigkeitsrand mit bräunlichgrauer Farbe. Bei der Prüfung verschiedener Stickstoffquellen (Tab. 8 und 9) zeigte sich im Vergleich zu Cellvibrio fulva eine größere Empfindlichkeit gegenüber Harnstoff, indem bei gleichzeitiger Anwesenheit von 0,05% $NaNO_3$ und 0,1 oder 1% Harnstoff in den Röhrchen mit Papier kein Wachstum stattfand, mit 0,1% Harnstoff ohne Nitrat das Papier nur sehr schwach oberflächlich angegriffen wurde und mit 1% gar nicht.

Da Dubos auch seinen Bakterienstamm „Co", der mit unserem B. W. 2 identisch zu sein scheint, mit keinem Namen belegt hat, und es sich um einen in basenreichen Böden weit verbreiteten Zellulosezersetzer handelt, schlagen wir vor, ihn Cellvibrio vulgaris zu nennen.

Wenn wir rückblickend die im Zusammenhang dieser Mitteilung wichtigsten Merkmale der beiden aus Waldstreu isolierten zellulosezersetzenden Bakterien überschauen, so muß hier noch einmal besonders verzeichnet werden ihr streng aerobes Verhalten, ihre im Vergleich zu den Pilzen hohe Empfindlichkeit gegenüber gelösten organischen Substanzen, gegenüber stärker sauerer Reaktion und, was damit vielleicht gleichbedeutend ist, gegenüber Ammonsulfat. Die zellulosezersetzenden Bakterien sind im Gegensatz zu den Pilzen hauptsächlich auf Zellulose und Stärke, also höher molekulare Kohlenstoffverbindungen als Energiequelle angewiesen. Arten vom Typus der von Kellerman, McBeth (21), Kellerman, McBeth, Scales, Smith (22), Sack (33), Snieszko (38) und Kalnins (20) beschriebenen, die angeblich wasserlösliche Kohlenstoffverbindungen ebensogut als Energiequelle verwerten können wie Zellulose, und die z. T. auch nach Skinner (37) und Snieszko (38) besser mit organischen N-Verbindungen gedeihen, haben wir in den Waldstreuproben mit unseren Methoden nicht aufgefunden. Vielleicht aber lassen sich mit Nährlösungen anderer Zusammensetzung und unter Verwendung organischer N-Quellen auch solche Formen aus Waldstreu isolieren. Ihnen wird jedoch,

was auch schon Winogradsky (46) betont hat, in der Natur kaum die Bedeutung als Zellulosezerstörer zukommen wie den mehr auf Zellulose angewiesenen Bakterien, zu denen zweifellos auch die beiden von uns aus Laubstreu isolierten Vibrio-Arten gehören.

4. Cytophagen.

Die Gattungsbezeichnung Cytophaga[1]) wurde von Winogradsky (45) eingeführt, der erkannt hatte, daß die von den Entdeckern Hutchinson und Clayton (15) vorgenommene Einordnung dieser eigenartigen Mikroorganismengruppe in die Gattung Spirochaeta sich nicht rechtfertigen läßt. Alle Vertreter der Gattung Cytophaga, von denen wir mehrere züchten konnten, die mindestens 5 verschiedenen Arten angehören, sind im Gegensatz zu den anderen Zellulosezersetzern, so weit bis jetzt bekannt, streng auf Zellulose und allenfalls Stoffe wie Cellophan spezialisiert. Die Art und Weise, in der die Zellulose von Cytophagen zum Zerfall gebracht wird, ist, worauf Winogradsky schon hingewiesen hat, anders als bei den Bakterien. Sie wird bei allen hier zu beschreibenden Arten in eine mehr oder weniger schleimige, verschieden, jedoch meistens gelb gefärbte und später nach dem Antrocknen häutig durchscheinende Masse verwandelt, allerdings wie bei den Bakterien nur unter streng aeroben Bedingungen und am besten bei maximaler Feuchtigkeit. Solche Papierkulturen vertragen das Austrocknen über Chlorcalcium genau so gut wie die der Vibrionen.

Allgemein morphologisch ist die Gattung Cytophaga schon von Hutchinson und Clayton, Winogradsky, Krzemieniewska (23) und anderen eingehend charakterisiert worden. Die vegetativen Zellen unterscheiden sich von denjenigen der echten Bakterien durch ihre zugespitzten Enden und ihre geringe Breite bei verhältnismäßig großer Länge. Wegen der außerordentlichen Feinheit der einzelnen Cytophagazellen sind sie sogar im Dunkelfeld nicht in jeder Lage sichtbar.

Soweit es sich um die von uns isolierten Formen handelt, sind sie alle beweglich, jedoch in anderer Art als die Bakterien. Während diese mit Hilfe von Geißeln lebhaft schwärmen, bewegen sich die Cytophagen ohne Geißeln in Richtung ihrer Längsachse bei gestreckter Zelle verhältnismäßig langsam fort. Winogradsky (45) glaubt winzige Haustorien als Bewegungsorgane gesehen zu haben, eine Beobachtung, die wir nicht bestätigen konnten. Außer der an ein Kriechen erinnernden Fortbewegung führen die Cytophagen häufig auch lebhafte Krümmungsbewegungen aus in der Art etwa, wie sie bei Nematoden beobachtet werden, was darauf schließen läßt, daß sie sehr viel biegsamer sind als Bakterienzellen, und was Hutchinson und Clayton u. a. veranlaßt haben mag, diese Mikroorganismen mit den Spirochaeten in verwandtschaftliche Beziehung zu setzen. Diese sonderbaren Krümmungsbewegungen sind in ihrer eigentlichen Bedeutung noch nicht geklärt, tragen aber vielleicht pathologischen Charakter. Denn besonders häufig sind sie zu beobachten, wenn die Cytophagen unter ungünstigeren Lebensbedingungen gehalten werden, und können dann bis zum regelrechten Ringschluß der Einzelzelle führen (Taf. II, Abb. 18). Eine Weiterentwicklung aus diesen Zellringen haben wir bis jetzt nicht beobachten können. Von Winogradsky sind mehrere Arten der Gattung Cytophaga be-

[1]) von Gescher (11) hat unabhängig von den englischen Forschern und fast zur gleichen Zeit 1920 ähnliche Formen beschrieben.

schrieben worden. Weil aber auch dieser Autor wie andere, die sich bisher mit diesen Organismen befaßt haben, nur Rohkulturen in Händen gehabt hat, kann heute noch nicht gesagt werden, welche der beschriebenen Arten tatsächlich mit Berechtigung weiter als solche zu führen und welche identisch sind. Denn es besteht die Möglichkeit, daß sich Größe und Form der einzelnen Cytophaga-Zellen wie auch die Farbe der Rohkultur mit der Zusammensetzung der Begleitflora ändern können.

Eine bestimmte Form aus der Gattung Cytophaga haben jedoch die meisten Autoren offenbar in Reinkultur gehabt. Auch uns gelang es, eine solche zu isolieren. Das Bemerkenswerte dabei ist, daß in unserem Falle sowohl als auch in den anderen bisher beschriebenen Fällen die Cytophaga-Stämme, die in Reinkultur zu wachsen vermögen, im Gegensatz zu den anderen, die das nicht können, „Mikrocysten" (23) bilden. Durch Nichtbeachtung dieser Verhältnisse ist es zu Irrtümern und Meinungsverschiedenheiten gekommen, die in jüngster Zeit durch Krzemieniewska (24) bis zum gewissen Grade geklärt werden konnten und durch unsere Untersuchungen in noch weiterem Maße ihre Aufklärung gefunden haben.

Die Frage, ob die bisher beschriebenen „Mikrocysten"bildenden Formen ihrerseits wieder alle der gleichen Art angehören, muß ebenfalls noch unbeantwortet bleiben. Hier wie auch bei den in Symbiose lebenden Arten könnte u. E. nur Klarheit geschaffen werden, wenn alle Originalkulturen vergleichend überprüft würden[1]).

B. F k. 1.

(Cytophaga globulosa n. sp.)

B. Fk. 1 ist die „Mikrocysten" bildende Art, die wir aus B. Fk. nach der Methode van Itersons (17) wie die zelluloselösenden Bakterien ohne Schwierigkeit in Reinkultur isoliert haben. Ihre vegetativen Zellen sind 3—6 μ lang (z. T. auch noch länger) und in der Mitte 0,2—0,3 μ breit. Die reifen „Mikrocysten" haben einen Durchmesser von 1,3—1,6 μ. Auf A-Zelluloseagar bildet B. Fk. 1 nicht wie die anderen im folgenden zu erwähnenden Arten wasserklare, sondern leicht getrübte Kolonien. Sie steht den Arten nahe, die in den Jahren seit der Entdeckung durch Hutchinson und Clayton (15) von verschiedenen Forschern beschrieben worden sind. Hutchinson und Clayton hatten behauptet, daß ihre Spirochaeta cytophaga ein kokkenförmiges Stadium im Entwicklungszyklus aufweise. Dieser Dimorphismus wurde verschiedentlich angezweifelt, vor allem von Winogradsky (45), zumal bekannt war, daß die Reinzucht gewisser Zellulosezersetzer große Schwierigkeiten verursacht. Bokor (4) zog aus seinen Beobachtungen an einem von ihm gezüchteten und Mycococcus cytophagus genannten aeroben Zellulosezersetzer den zu Unrecht verallgemeinerten Schluß, daß die intensiv Zellulose angreifenden Mikroben fadenbildend seien und der große „Coccus" der Spirochaeta cytophaga wie alle anderen Bakterien in Zellulosezersetzer-Kulturen als Verunreinigungen des Mycococcus, eben des aeroben Zellulosezersetzers schlechthin, angesehen werden müßten (9). Die vegetative Form der Spirochaeta cytophaga wird von ihm nur als Morphode des Mycococcus angesehen. Winogradsky aber spricht in einer

[1]) Die von uns in dieser Abhandlung beschriebenen Zellulosezersetzer stehen wissenschaftlichen Instituten zu weiteren Untersuchungen zur Verfügung.

neueren Veröffentlichung (46) die Vermutung aus, daß auch Bokor einem Irrtum verfallen sei, nämlich, daß er eine Mischkultur von Cytophaga und Actinomyces für die Reinkultur eines Zellulosezersetzers gehalten habe.

Nachdem somit die Existenz einer kokkenbildenden Cytophaga mehr als zweifelhaft geworden war, brachte Krzemieniewska (23) wider Erwarten eine Bestätigung der Zusammengehörigkeit von Stäbchen- und Kokkenformen und bezeichnete die letzteren als „Mikrocysten".

Diesen ganzen verworrenen Fragenkomplex haben wir durch unsere im Jahre 1932 begonnenen Untersuchungen soweit geklärt, als wir den Beweis erbringen, daß es erstens „Mikrocysten"bildende Cytophaga-Arten gibt, die in Reinkultur gehalten werden können und so meistens noch besser gedeihen als in Mischkultur mit Bakterien, und daß es zweitens andere Arten gibt, die nicht die Fähigkeit zur „Mikrocysten"-Bildung besitzen, dafür aber auf Symbiose mit Fremdorganismen angewiesen sind. Es ist nicht zu bezweifeln, daß auch Hutchinson und Clayton (15), von Gescher (11), Dubos (8), Krzemieniewska (23) und andere Autoren eine „Mikrocysten"bildende Art in Reinkultur beschrieben haben, während Winogradsky (45, 46) es vor allem mit verschiedenen in Symbiose lebenden Formen zu tun gehabt hat und daraus, daß es ihm nicht gelungen war, diese frei von Bakterien zu züchten, irrtümlich den Schluß gezogen hat, auch die „Mikrocysten" seien den Zellulosezersetzer begleitende selbständige Kokken.

Kürzlich ist eine weitere Mitteilung Krzemieniewskas (24) erschienen, in der bereits diese Schlußfolgerung Winogradskys widerlegt und der Nachweis geführt wird, daß es neben der umstrittenen Form solche Cytophagen gibt, die keine „Mikrocysten" bilden, und die also auch nicht der von Hutchinson und Clayton beschriebenen Art entsprechen können. Diese letztere, wie sie annimmt, mit der von ihr gezüchteten identische, nennt sie Cytophaga myxococcoides.

Das Vorkommen der „Spirochaeta cytophaga" und deren Fähigkeit zur „Mikrocysten"-Bildung wurden neuerdings auch von Rokitzkaja (30) noch einmal bestätigt. Ebenso beschrieben kürzlich Issatschenko und Wackenhut (16) eine „Mikrocysten"bildende Art, die allerdings von derjenigen Krzemieniewskas (23) und Rokitzkajas in einigen Punkten der Entwicklung abweicht. Welche dieser beschriebenen Formen der Gattung Cytophaga gleichartig sind, bleibt dabei unentschieden.

Den Entwicklungszyklus unserer „Mikrocysten"bildenden Cytophaga B. Fk. 1, die auf Filtrierpapier nicht wie die von Hutchinson und Clayton (15), von Gescher (11), Krzemieniewska (23) und Issatschenko und Wackenhut (16) beschriebenen eigelb aussieht, sondern schmutzig gelblichgrau, und die auch nicht wie die Spirochaeta cytophaga von Dubos (8) ihr Wachstum schon bei $+37^{\circ}$ C einstellt, sondern erst bei $+40$ bis $+41^{\circ}$ C, haben wir im Hängetropfen mit A-Lösung und Cellophan verfolgt. Wenn die Entwicklung kräftig verlaufen soll, dann ist es nötig, daß die Lösung nicht zu stark beimpft wird. Die Stoffwechselprodukte, nach Annahme Krzemieniewskas vornehmlich der Schleim, scheinen die Keimung der Mikrocysten und die weitere Entwicklung hemmend zu beeinflussen.

Da B. Fk. 1 wie die von den obengenannten Autoren beschriebenen Formen gegenüber höheren Temperaturen widerstandsfähiger ist als die sich nicht encystierenden Cytophagen, haben wir das Impfgut vor der Verwendung 10 Min. lang auf + 50 bis + 60° C erhitzt. Dadurch wurden die Schleimpartikelchen gelöst und die „Mikrocysten" besser verteilt. Gleichzeitig wurde damit eine die Beobachtung der „Mikrocysten"-Keimung störende Vermehrung der noch lebenden vegetativen Zellen unterbunden. Denn während unser „Mikrocysten"enthaltendes Material erst durch 10 Min. langes Erhitzen auf + 67° C abgetötet wird, vermögen die vegetativen Zellen anscheinend nur eine Temperatur von höchstens + 50° C während derselben Zeit ungeschwächt zu ertragen.

Tab. 4. Einfluß vorübergehender Erhitzung auf die Entwicklung von B. Fk. 1.

Untersucht nach	Erhitzt auf				
	47,5° C	49,8° C	51° C	52° C	58° C
24 Std. . . .	+	+	—	—	—
48 Std. . . .	+	+	—	—	—
72 Std. . . .	+	+	+	—	—
96 Std. . . .	+	+	+	—	—

\+ = Bewegung und Vermehrung.
— = Keine Bewegung und keine Vermehrung.

Die Ergebnisse der in Tab. 4 zusammengefaßten Versuche sind in folgender Weise gewonnen: Hängetropfenkulturen mit A-Lösung und Cellophan wurden etwa 24 Std. nach Beginn der Entwicklung — neue „Mikrozysten" sind dann voraussichtlich noch nicht entstanden — 10 Min. lang den verschiedenen Temperaturen ausgesetzt und darauf in den Brutschrank von + 32° C gebracht. Diese Temperatur entspricht, wie aus der weiter unten aufgeführten Reihe hervorgeht, ungefähr dem Optimum. In gewissen Abständen wurden dann die Präparate auf eine Weiterentwicklung hin mikroskopisch untersucht.

Es zeigte sich, daß die vegetativen Zellen von Temperaturen ab + 51° C deutlich geschädigt werden. Wenn diese Kulturen nach 3—4 Tagen Entwicklung zeigten, so kann das zweierlei Gründe haben: Entweder die neu aufgetauchten Schwärmer waren aus „Mikrocysten" entstanden oder aus überlebenden vegetativen Individuen, die sich wieder erholt hatten. Krzemieniewska (24) gibt für die von ihr untersuchte Form an, daß die vegetativen Zellen beinahe dieselbe Widerstandsfähigkeit gegenüber höheren Temperaturen (bis + 58° C) aufweisen wie die „Mikrocysten" (bis + 62° C). Die in unseren durch Erhitzung geschwächten Kulturen später wieder einsetzende Entwicklung vollzog sich immer nur sehr schleppend, vielleicht infolge Hemmung durch etwaige aus abgestorbenen Zellen in die Umgebung diffundierte Stoffe.

Der Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Zellulosezersetzung in A-Lösung ist aus der nachstehenden Reihe ersichtlich:

16° C	20° C	26° C	32° C	37° C	40° C	42° C
—	(+)	++	+++	+ + +	+ +	—

Lebhafte Bewegung der Cytophagen wurde nur im Temperaturbereich von etwa + 28 bis + 37° C beobachtet. Bei tieferer, und zwar schon bei Zimmertemperatur, verhalten sich die Zellen sehr viel ruhiger.

Das Austrocknen an den mehr oder weniger zersetzten Papierstreifen

über Chlorcalcium hat B. Fk. 1 30 Tage lang ebensogut überstanden wie Cellvibrio fulva.

Trotz sehr zahlreicher Versuche ist es uns bis heute nur in einigen wenigen Fällen gelungen, die Keimung der „Mikrocysten" am lebenden Material in ziemlich allen Phasen zu verfolgen. Solange wir im flüssigen Tropfen untersuchten, in dem sich die „Mikrocysten" infolge leichter Strömungen langsam und unberechenbar bewegten, konnten wir nicht einmal feststellen, ob die Entwicklung tatsächlich von diesen kugelrunden Gebilden ausging. Wir mußten deshalb zu einer anderen Methode greifen, die eingangs auch erwähnt worden ist und darauf beruht, daß die „Mikrocysten" zwischen einer am Deckglas hängenden sehr flachen Agarschicht und dem Cellophanblättchen festgelegt wurden. Diese Lebendpräparate hielten wir bei + 26, 28, 30° und am häufigsten bei + 32° C.

Die Lage von 100—300 Cysten an einer oder mehreren bestimmten Stellen des Cellophans in verschiedenen Präparaten wurde genau aufgezeichnet. Immer sind von diesen in der Zeichnung festgelegten „Mikrocysten" allerhöchstens 5—10% gekeimt, und zwar bei +32° C innerhalb 12—16 Std. Ob später noch einige keimen, konnten wir nicht sehen, weil sich die bereits vorhandenen vegetativen Zellen inzwischen sehr stark vermehrt hatten. Wir halten es aber nicht für wahrscheinlich. Immerhin haben wir so aus dem Verschwinden der markierten „Mikrocysten" und dem späteren Erscheinen von Stäbchen an diesen Stellen nachweisen können, daß aus den „Mikrocysten" wieder die schlanken zugespitzten Zellen hervorgehen mußten, und daß erstere somit tatsächlich zum Entwicklungskreislauf dieser Cytophaga gehören.

Die Beobachtung des Keimungsvorganges selbst gestaltete sich wesentlich schwieriger. Im Dunkelfeld war nur festzustellen, daß die ringförmig erscheinenden „Mikrocysten" nach etwa 8 Std. oder später unsichtbar wurden. In einem Falle haben wir eine solche genau festgelegte Stelle, an der eine „Mikrocyste" im Dunkelfeld nicht mehr sichtbar war, vorsichtig mit Methylenblau 1 + 10 angefärbt und im Hellfeld mit Ölimmersion untersucht. Dann schien das noch runde Gebilde blau gefärbt, ohne schärfere Konturen und nicht mehr so stark lichtbrechend. Weitere Einzelheiten waren nicht zu erkennen.

Im Hellfeld an Lebendpräparaten konnte folgendes festgestellt werden: Nach etwa 12 Std. traten aus einzelnen „Mikrocysten", die dem Cellophan möglichst auflagen, kurze „Keimschläuche" heraus, die nur deutlich zu erkennen waren, wenn die Mikrometerschraube in Richtung einer Senkung der Optik, also eines nur wenig tiefer liegenden Gesichtsfeldes bewegt wurde. Es erklärt sich das u. E. daraus, daß die Keimung in Richtung auf das Cellophan erfolgt, also senkrecht nach unten, und das Keimstäbchen sich erst seitlich orientiert, wenn die Oberfläche des Cellophans dem senkrechten Weiterwachstum Widerstand entgegensetzt (siehe Schema Abb. 1). War eine gewisse Länge erreicht, so war häufig zu beobachten, daß die „Mikrocyste" aus der Kugelform mehr in die Birnenform überging, und zwar schien eine stärkere Verschleimung der „Mikrocyste" zuerst an der Austrittsstelle des Keimstäbchens stattzufinden. Durch die Streckung des Stäbchens und das Daran-haften-bleiben des Schliemes wurde dann auch eine Dehnung der „Mikrocyste" bewirkt. Zuweilen blieb die Kugelform auch noch länger erhalten, nur das Lichtbrechungsvermögen wurde entsprechend schwächer. Schließlich war das Stäbchen in seiner

vollen Länge sichtbar, und das einzige, was von der „Mikrocyste" dann noch übrig blieb, war meistens, aber nicht immer, ein noch etwas stärker lichtbrechendes punktförmiges Gebilde, vielleicht durch Kontraktion des noch gebliebenen Schleimes entstanden. Hüllen von „Mikrocysten", wie sie Krzemieniewska (24) nach der Keimung gesehen zu haben angibt, konnten von uns niemals beobachtet werden. Jedoch fanden sich in unseren Präparaten immer einige abgestorbene bogenförmig gekrümmte Zellen, die solche Hüllen vortäuschen können. Die Keimungsart, wie sie nach Krzemieniewska erfolgen soll, konnte bei unserer „Mikrocysten"-bildenden Cytophaga ebenfalls nicht bestätigt werden. Wurde Zelluloseagar und Cellophan bei der Herstellung der Lebendpräparate angewandt, so fanden sich Keimungsstadien, bei denen von den „Mikrocysten" aus in unmittelbarer Nähe des Zelluloseagars die „Keimschläuche" nach oben und dann seitlich verliefen, auf dem Cellophan dagegen umgekehrt. Die freien Stäbchen schieden sehr bald ein das Cellophan in ihrer nächsten Umgebung schwach lösendes Enzym aus, senkten sich also in ihr „Fraßbett", in dem erst die Vermehrung einsetzte. Die Teilung erfolgte quer zur Längsrichtung. Die außerordentlich feinen Zuspitzungen der Zellenden ließen sich niemals am lebenden Material, sondern stets erst nach Anfärben erkennen. Es schien, daß nach der Teilung die Verjüngung der Pole durch seitliches Aneinandervorbeischieben der Spitzen erfolgte, wie das im Schema Abb. 1 unten links zur Darstellung gebracht ist.

Abb. 1.
Entwicklungsgang der Cytophaga globulosa (B. Fk. 1) auf Cellophan.

Den Keimungsvorgang von Anfang bis zu Ende fortlaufend im Lebendpräparat zu verfolgen, war deshalb schwer oder kaum durchführbar, weil 1. der Prozentsatz der zur Keimung kommenden „Mikrocysten" sehr gering war, 2. die Aufschwemmung nicht zu dicht sein durfte und 3. die Vergrößerung so stark wie nur irgend möglich gewählt werden mußte[1]).

Aus geeigneten Präparaten suchten wir solche „Mikrocysten" aus, die im Beginn der Keimung sich befanden, stellten genau auf sie ein und brachten das Mikroskop entweder in einen entsprechenden Mikroskop-Brutschrank bei + 30 bis + 32° C, in dem die fortlaufende Beobachtung möglich war, oder in einen gewöhnlichen Thermostaten von + 32° C, aus dem das Mikroskop in bestimmten Abständen herausgenommen und das Präparat kontrolliert wurde. Leider stellte es sich heraus, daß gerade in den Fällen, in denen die Anfangs- oder fortgeschrittenen Stadien der Keimung klar und überraschend deutlich zu sehen waren, eine Weiterentwicklung nicht eintrat,

[1]) Wir benutzten stets die Öl-Immersion $^1/_{12}$ oder $^1/_{12}$a (von Leitz sowohl wie von Zeiss) und wechselnd die Kompens.-Okulare 6, 8 und 12.

weil die Flüssigkeitsschicht zu dünn geworden war[1]). Daß das bei völlig eingeschlossenen Präparaten vorkommen kann, haben wir leider mehrfach feststellen müssen. In den Fällen aber, in denen die begonnene Keimung verfolgt werden konnte, verlief sie vielfach bei +32° C innerhalb eines Zeitraumes von nur wenigen Minuten. Selten zog sich der Vorgang über mehrere Stunden hin. Uns scheint diese kurze Zeitspanne der Grund dafür zu sein, daß solche Keimungen so außerordentlich schwer und selten zu verfolgen sind. In jungen Kulturen auf Cellophan ließen sich nach Ausstrich und Anfärbung mit Methylenblau stets, wenn auch in sehr geringer Zahl in Keimung befindliche „geschwänzte Mikrocysten" nachweisen.

Im Hängetropfen ohne Zellulose oder in einiger Entfernung neben dem Cellophan haben wir niemals „Mikrocysten" keimen sehen. Das ist auch wohl kaum anders zu erwarten, obwohl Krzemieniewska (24) bei der von ihr untersuchten Cytophaga Keimung in Abwesenheit von Zellulose beobachtet haben will.

Die ersten vegetativen Zellen schienen zunächst unbeweglich in den kleinen „Fraßbetten" zu liegen. Erst nach einer etwas stärkeren Vermehrung krochen aus ihnen Schwärmer nach verschiedenen Richtungen davon, um dann an anderem Ort neue Korrosionsstellen zu bilden oder aber sich zu encystieren.

Sehr bald kam es dann an der Ausgangsstelle der Entwicklung und später auch daneben und in weiterer Entfernung zu Ansammlungen schwärmender Individuen, die, sofern es ihnen die räumlichen Verhältnisse gestatteten, kleinere bis sehr große sternförmige Haufen bildeten. Das alles vollzog sich zunächst nur auf dem Cellophan. Erst wenn dieses ganz und gar besetzt war, entstanden auch „Sterne" neben dem Cellophan, woselbst sich im Flüssigkeitstropfen die Vorgänge am besten beobachten ließen (Taf. I, Abb. 6). Solange sich nur erst 2—4 Zellen zusammengefunden hatten, war an diesen sehr deutlich zu sehen, wie sie mit jeweils einem ihrer spitzen Enden fest aneinander haften blieben (Taf. I, Abb. 4). Die sehr feine Verbindungsstelle war zwar nicht sichtbar. Da sich aber die Zellen zunächst noch in Bewegung befanden, wurde mitunter der eine Teil eines einen spitzen Winkel bildenden Zellpaares von dem anderen infolge ruckartiger Zugbewegung des letzteren an der Spitze umgebogen. Daran war die feste Verbindung beider Zellen oder auch einiger mehr deutlich zu erkennen.

Durch neu hinzukommende Schwärmer wuchsen die „Sterne" schließlich zu ansehnlicher Größe (Taf. I, Abb. 5–7), wobei durch die äußeren jüngeren Zellen, die sich immer sehr lebhaft krümmten, schlängelten und vor- und rückwärts bewegten, der innere, in der Entwicklung fortgeschrittene Teil des Zellsternes verdeckt wurde.

Wenn nach mehreren Tagen sehr viele Schwärmer in einem „Stern" gruppiert waren, hörte in diesem jede Bewegung auf, und neben und über ihm bildeten sich neue Ansammlungen, bis alle Schwärmer zur Ruhe gekommen waren und keine Vermehrung mehr stattfand. Einige Tage nach ihrer Entstehung zerfielen die Zellsterne wieder, wobei dann in ihrem Innern

[1]) Welche Bedeutung der Feuchtigkeit beim Gelingen der Präparate zukommt, läßt sich dadurch erweisen, daß an manchen Tagen bei besonders trockener Luft im Laboratorium und damit zusammenhängender schnellerer Verdunstung der sehr kleinen Flüssigkeitsmengen während der Herstellung der Präparate kaum eins von zehn derselben anging, während stets 100 prozentiger Erfolg zu erzielen war, wenn Cellophanstückchen auf dem 0,7 prozentigen Agar in Petrischalen beimpft und die Schalen in einer feuchten Kammer gehalten wurden.

wie in einem Gehäuse entstandene „Mikrocysten" freigelegt wurden (Taf. I, Abb. 8—10). Es ist also offensichtlich, daß der „Mikrocysten"-Bildung die „Stern"-Bildung voraufgeht, und es ist ferner auf Grund obiger Beobachtungen als wahrscheinlich anzunehmen, daß in den „Sternen" vor der Entstehung der „Mikrocysten" Zellfusionen stattfinden. Wir haben es hier also offenbar mit einem ähnlichen Vorgang zu tun, wie wir ihn für Pseud. tumefaciens beschrieben haben (41), mit dem Unterschied allerdings, daß bei B. Fk. 1 im Gegensatz zu Pseud. tumefaciens ein auffällig sichtbares Produkt der „Stern"-Bildung entsteht, nämlich die „Mikrocysten". Darüber, ob es sich bei diesem Verhalten von B. Fk. 1 um einen Sexualvorgang handelt, kann natürlich noch viel weniger ausgesagt werden als über die gleiche Frage bei Pseud. tumefaciens, denn die außerordentliche Feinheit der Cytophaga-Zellen hat uns nähere diesbezügliche Beobachtungen bis heute nicht ermöglicht.

Die „Mikrocysten"-Bildung, im Hellfeld an lebenden Präparaten beobachtet, verlief in der Weise, daß die vegetativen Zellen sich allmählich verkürzten und verbreiterten (wie es das Schema Abb. 1 und Taf. I, Abb. 9 und 10 und Taf. II, Abb. 11, erkennen lassen). Dabei war anfänglich von Plasmadifferenzierung noch nichts oder sehr wenig zu sehen. Später zeigte sich diese in der Form, daß nach den beiden Zellpolen hin die Lichtbrechung zunahm und in der Mitte der Zelle ein ungleichmäßiger Streifen ohne stärkere Lichtbrechung erkennbar wurde. Färbungen mit Methylenblau, die an Präparaten mit derartigen Stadien vorgenommen wurden, ergaben, daß gerade der wenig lichtbrechende mittlere Teil sich intensiv färbte, die Pole jedoch ungefärbt blieben. Meistens begann, sobald die Differenzierung deutlich wurde, eine schwerfällige, mehr hin- und herschaukelnde Bewegung dieser Zellen, als ob sie mit einem Ende unsichtbar festgehalten würden. Dann trat vielfach ein geringer Ortswechsel ein, die länglich-ovalen Zellen legten sich meist horizontal, verloren ihre Beweglichkeit, die Verkürzung schritt fort, die Plasmadifferenzierung verschwand[1]), und die ovale Form ging in die kugelige über. Dieser ganze Vorgang dauerte bei + 32° C im allgemeinen etwa 1 Std., selten länger als 2 Std.

Die Ruheform von B. Fk. 1 kann also nach dem Vorschlag von Krzemieniewska (23) als Mikrocyste und die Art ihrer Entstehung als Encystierung bezeichnet werden. Der Vorgang ließ sich so oft und so einwandfrei verfolgen, daß Zweifel darüber, daß diese beiden Zellformen zueinander gehören und ineinander übergeführt werden können, für uns nicht mehr bestehen.

Die meisten der im Innern der sternförmigen Haufen gelegenen Zellen scheinen die Umwandlung in Mikrocysten durchzumachen, während die äußeren „Hüllzellen" nach dem Zerfall der „Sterne" größtenteils einer allmählichen Auflösung entgegengehen. Es bleiben dann schließlich im wesentlichen nur die Mikrocysten übrig (Taf. II, Abb. 12).

Mit der Entstehung dieser Mikrocysten haben die eigenartigen Krümmungsbewegungen einzelner Zellen nichts zu tun. Das Schlängeln und Krümmen sahen wir nur, solange noch eine rege Vermehrung festzustellen war, und zwar krümmten sich hauptsächlich die allein oder am Rande der „Sterne" liegenden Zellen. Wenn sich eine auffallend große Zahl derselben so ver-

[1]) Im gefärbten Präparat waren Differenzierungen dann noch sichtbar.

hielt (Taf. II, Abb. 13), dann zerfielen die „Sterne" wieder, ohne daß in ihnen Mikrocysten entstanden waren. Diese sahen wir niemals aus ring- oder bogenförmig gestalteten Zellen hervorgehen.

Ernährungsphysiologisch verhielt sich B. Fk. 1 anders als viele heterotrophe Bakterien. Während sie sich offenbar nur Zellulose und Stoffe wie Cellophan als Energiequelle nutzbar machen kann, zeigt sie gegenüber einigen anderen Kohlenstoffverbindungen ein vollständig indifferentes Verhalten oder wird sogar von solchen wie Natriumacetat, Dextrose und Raffinose mehr oder weniger stark geschädigt (siehe Tab. 6). Wie Dextrose wirken auch die höher molekularen, wasserlöslichen Abbauprodukte der Zellulose hemmend auf die Zellulosezersetzung durch B. Fk. 1 (siehe Tab. 7); und zwar scheint es, als ob die Giftigkeit dieser Zellulosebausteine im umgekehrten Verhältnis zu ihrer Molekülgröße steht. Im Hängetropfen mit 0,1% Tetraose als alleiniger Kohlenstoffquelle wurden teratologische Formen beobachtet, die aussahen wie stark aufgeblähte und ungewöhnlich große Übergangsstadien bei der Mikrocystenbildung. Als brauchbare alleinige Kohlenstoffquellen in Hängetropfenkulturen kamen alle obenerwähnten Abbauprodukte nicht in Frage.

Für die Stickstoffversorgung der Cytophaga B. Fk. 1 eignen sich am besten Nitrate in geringeren Konzentrationen als 1%, weniger gut Ammonsulfat, das die anderen, schon mehrfach erwähnten Autoren für ihre mikrocystenbildenden Kulturen meistens verwendet haben. Die organischen Stickstoffverbindungen sind mehr oder weniger unbrauchbar (siehe Tab. 8 und 9). Auf die besonderen Verhältnisse bei Asparagin und Pepton wurde schon gelegentlich entsprechender Versuche mit Cellvibrio fulva hingewiesen.

Die Ermittlungen, die wir bezüglich der Reaktionsempfindlichkeit von B. Fk. 1 gemacht haben, decken sich ungefähr mit denjenigen, die Dubos (8), Jensen (19) und Krzemieniewska (24) bei den von ihnen isolierten Stämmen gefunden haben. Demnach gedeiht B. Fk. 1 am besten im Bereich des Neutralpunktes. Die untere ph-Grenze liegt ungefähr bei ph 6,0, wenn Ammonsulfat als Stickstoffquelle gegeben wird.

Tab. 5. Einfluß von Stickstoffquelle und Reaktion auf die Zellulosezersetzung durch B. Fk. 1.

Nährlosung	6 Tage bei 32° C			
	$NaNO_3$ K_2HPO_4	$NaNO_3$ KH_2PO_4	$(NH_4)_2SO_4$ K_2HPO_4	$(NH_4)_2SO_4$ KH_2PO_4
Anfangs-ph	7,6	6,1	7,1	6,1
End-ph	7,7	7,2	6,6	6,2
Papierzersetzung	gut	gut	sehr schwach	fast keine

Wenn sich auch unsere Cytophaga B. Fk. 1 in mancher Hinsicht nicht von ähnlichen, von anderen Autoren beschriebenen Formen unterscheidet, so verhält sie sich doch in einigen Merkmalen — Farbe der Papierkultur, maximaler Wachstumstemperatur, thermalem Tötungspunkt, Entstehungsart der Mikrocysten und ihrer Keimung — so deutlich verschieden von jenen, daß wir für sie einen besonderen Namen in Vorschlag bringen möchten, und zwar Cytophaga globulosa.

B. F k. 2.

(C y t o p h a g a s i l v e s t r i s n. sp.)

Der soeben beschriebenen C y t o p h a g a - Art ist B. Fk. 2 außerordentlich ähnlich, indem diese wie jene bei Zersetzung des Filtrierpapiers genau denselben gelblichgrauen Farbstoff bildet, ihre vegetativen Zellen ungefähr dieselbe Größe aufweisen (3—7 × 0,2—0,3 μ) und sich auch nach einiger Zeit zu Sternen zusammenlagern. Ebenso sind die Kardinalpunkte der Temperatur für ihr Wachstum die gleichen. Beide Formen waren ursprünglich aus B. Fk. mit Cellophan in A-Lösung als Mischkultur angereichert worden. In dieser erkannten wir die beiden verschiedenen Arten erst beim Plattenguß mit Zelluloseagar. B. Fk. 1 bildete leicht getrübte, B. Fk. 2 dagegen wasserklare Kolonien. Im Verlauf der weiteren Untersuchungen stellte sich dann heraus, daß B. Fk. 2 ebenso wie die noch zu beschreibenden Arten im Gegensatz zu B. Fk. 1 keine Mikrocysten bildet, offenbar deshalb auch schon bei + 50° C innerhalb 10 Min. abgetötet wird und außerdem mit symbiontischen Bakterien vergesellschaftet ist.

Die Zahl der verschiedenen Begleitbakterien in der Rohkultur ließ sich nach dem geschilderten Verfahren sehr leicht auf e i n e für den Zellulosezersetzer notwendige A r t beschränken. Daß diese für das Gedeihen der Kultur in der Tat unerläßlich ist, konnte mit den im methodischen Teil erwähnten Verfahren bewiesen werden.

Das Begleitbakterium ist ein auf Möhrenagar farblos und schleimig wachsendes, bewegliches Stäbchen mit monopolarer Begeißelung, das keinen Schwefelwasserstoff und kein Indol bildet, Lackmusmilch unter schwach rötlicher Verfärbung koaguliert und Gelatine verflüssigt. Eine genauere Bestimmung des Bakteriums steht noch aus.

Die Entwicklung der Symbiosekultur im hängenden Tropfen, bestehend aus A-Lösung mit einem Stückchen Cellophan, verläuft bis auf die hier fehlende Mikrocystenbildung in ähnlicher Weise wie bei C y t o p h a g a g l o b u l o s a. Gewöhnlich konnten 24—48 Std. nach der Impfung bei + 32° C die ersten beweglichen Zellen auf dem Cellophan wahrgenommen werden, die sich dann schnell weiter vermehrten und durch ihre Stoffwechselprodukte auch die Bakterienentwicklung ermöglichten. Etwa 24 Std. nach dem ersten Auftreten von Korrosionsstellen auf dem Cellophan traten schwärmende Cytophagen zu Zellsternen zusammen (Taf. II, Abb. 14 bis 16), die nicht ganz so regelmäßig und fest gefügt zu sein schienen wie bei C y t o p h a g a g l o b u l o s a. Die „Sterne" wuchsen zu größeren Gruppen bis nach 5—6 Tagen alle schwärmenden Cytophagen zur Ruhe gekommen waren. Inzwischen hatten sich in gleicher Weise kleinere „Sterne" der B e g l e i t b a k t e r i e n gebildet, auch innerhalb der größeren C y t o p h a g a - „Sterngruppen". Weiterhin konnten irgendwelche auffälligen Veränderungen der Kultur nicht mehr festgestellt werden. Die Lichtreflexion im Dunkelfeld wurde allmählich schwächer, was auf Absterben und Zerfall der Zellen ebenso hindeutet wie die ungleichmäßige Färbbarkeit derselben. Wurde eine solche ältere Hängetropfenkultur auf Zelluloseagar mit jungen Symbiosebakterien abgeimpft, dann fand hier weder Vermehrung noch Zelluloselösung statt.

Auch die Symbiosekultur B. Fk. 2 ist gegenüber verschiedenen organischen Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen mehr oder weniger empfindlich, wie sie sich überhaupt ernährungsphysiologisch nicht wesentlich

von anderen Cytophaga-Kulturen unterscheidet. Einzelheiten sind den Tab. 6—9 zu entnehmen. Von allen geprüften N-Quellen kommt als wirklich gut geeignete nur Natriumnitrat in Konzentrationen um 0,1% herum in Frage. Wenn das ungeeignete physiologisch sauere Ammonsulfat mit physiologisch alkalischem Natriumnitrat bei verschiedenem Ausgangs-ph in Vergleich gesetzt wurde, dann verhielt sich B. Fk. 2 ungefähr genau so wie Cytophaga globulosa (Tab. 5).

Eine Cytophaga dieser Art ist im Schrifttum bisher noch nicht erwähnt. Wir betrachten sie deshalb als neu und schlagen vor, sie Cytophaga silvestris zu nennen.

B. W. 3.

(Cytophaga anularis n. sp.)

Die vegetativen Zellen dieser in S-Lösung aus B. W. angereicherten Cytophaga sind etwas kleiner (2,5—5 × 0,2—0,3 μ) als diejenigen der beiden schon beschriebenen Arten (Taf. II, Abb. 17). Ein Entwicklungskreislauf konnte bei ihr bisher nicht festgestellt werden. Es war weder eine deutliche „Stern"- noch Mikrocystenbildung zu beobachten. Die beweglichen vegetativen Zellen kommen mit dem Alter der Kultur und mit dem Verschwinden der Zellulose zur Ruhe und scheinen dann größtenteils abzusterben. Gewisse Ansätze zur Bildung von Zellsternen in Hängetropfen haben sich allerdings manchmal gezeigt, wie auch in Ausstrichen von sehr jungen Papierkulturen häufig schwer auflösbare Zellhaufen gefunden wurden, so daß die Möglichkeit von Zellfusionen in weniger charakteristischen Ansammlungen besteht, oder die „Sterne" nur unter besonderen uns unbekannten Bedingungen gebildet werden.

B. W. 3 wurde mit einem aus der Rohkultur stammenden gelben beweglichen Kurzstäbchen kombiniert, das wir vorläufig Bacterium a nennen, und das besonders gut auf Stärkeagar und Liebigs Fleischextrakt-Agar wächst, sehr viel schlechter dagegen auf Möhrenagar und eigenartigerweise auch Rindfleischbouillon-Agar. Eine weitere Kultur, die als Symbionten eine Mischung von drei verschiedenen farblosen Bakterienarten enthält, und die das Papier nicht wie B. W. 3 + Bacterium a unter Bildung eines bräunlich-gelben sondern eines hellgelben Farbstoffes zersetzt, ist deshalb besonders beachtenswert, weil in ihr die Cytophagen in S-Lösung zahlreiche und regelmäßig gebaute Zellringe von 1,0—1,2 μ Durchmesser bilden (Taf. II, Abb. 18). Unter diesen Umständen ist die Zellulosezersetzung durch B. W. 3 sehr viel schwächer.

Daß uns der Versuch, die ursprüngliche Begleitflora durch den ebenfalls zelluloselösenden Cellvibrio fulva zu verdrängen, nicht geglückt ist, erscheint in Anbetracht des sehr ähnlichen Stoffwechsels der Cytophagen und der Cellvibrionen nicht verwunderlich.

Die folgenden Untersuchungen über das ernährungsphysiologische Verhalten von B. W. 3 wurden zu einer Zeit ausgeführt, als die Beschränkung der Zahl der symbiontischen Bakterienarten erst bis auf 2 gelungen war, nämlich auf das Bacterium a und das diesem außerordentlich ähnliche, aber etwas schwächer gelb gefärbte, das wir vorerst Bacterium b nennen wollen. Später wurde auch dieses letztere aus den Kulturen entfernt, ohne daß dadurch die zellulosezersetzende Kraft derselben gelitten hat.

Gegenüber wasserlöslichen organischen Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen ist B. W. 3 in ähnlicher Weise empfindlich wie andere Cytophagaarten (siehe Tab. 6—9). Das kommt schon darin zum Ausdruck, daß dieser Zellulosezersetzer im Gegensatz etwa zu den Vibrionen auf Zellulosegelatine in Petrischalen nicht wächst, und daß bei einem Plattenguß mit Zelluloseagar und 0,5% Dextrose nur die gelben Begleitbakterien zur Entwicklung kommen, ohne daß die Zellulose angegriffen wird. Die für Cytophaga silvestris gewonnenen Daten über den Einfluß von Zelluloseabbauprodukten auf die Zellulosezersetzung treffen auch für B. W. 3 zu.

Tab. 6. Einfluß verschiedener anderer Kohlenstoffverbindungen auf die Zellulosezersetzung in A-Lösung.

Organismus	%	Natrium-azetat	Mannit	Dextrose	Saccharose	Raffinose	losliche Starke
Cellvibrio fulva	—						
	0,01						
	0,1						[1]
	1						[1]
Cellvibrio vulgaris	—						
	0,01						
	0,1						
	1						[1]
Cytophaga globulosa	—						
	0,01						
	0,1						
	1						
Cytophaga silvestris	—						
	0,01						
	0,1						
	1						
Cytophaga anularis	—						
	0,01						
	0,1						[2]
	1	—		—		—	—

[1]) Wachstum in der Nahrlosung.
[2]) Wachstum der Begleitbakterien in der Nahrlosung.
= Sehr starke Zellulosezersetzung; + + = starke Zellulosezersetzung; = schwache Zellulosezersetzung; ( ) = sehr schwache Zellulosezersetzung; — = keine Zellulosezersetzung.

Der thermale Tötungspunkt für B. W. 3 liegt bei + 46° C, und die Kardinalpunkte der Wachstumstemperaturen sind der folgenden Reihe zu entnehmen:

5° C	10° C	14° C	20° C	26° C	30° C	32° C	35° C
—		+	+ +		+ + +	+	—

Es stellte sich sehr bald heraus, daß B. W. 3 auf Nährböden mit A-Lösung besser gedeiht als auf solchen mit der das physiologisch sauere Ammonsulfat enthaltenden S-Lösung, obwohl es für diese wie für viele andere Cytophaga-Formen charakteristisch und merkwürdig zugleich ist, daß sie sich immer in den Anreicherungskulturen mit S-Lösung besonders schnell und reichlich entwickelten. Ein vergleichender Kulturversuch in Lösungen

mit Ammon- und Nitratstickstoff und verschiedener Reaktion ergab für B.W. 3 die gleiche Empfindlichkeit gegenüber Ammonsulfat wie für Cytophaga globulosa (Tab. 5). Da nicht-mikrocystenbildende Cytophagen bis jetzt nur von Winogradsky (45) und Krzemieniewska (24)[1]) gezüchtet worden sind, und zwar in unbestimmten Rohkulturen, von denen die Zellulosezersetzer mit den von uns isolierten nicht identisch zu sein scheinen, glauben wir uns berechtigt, die soeben geschilderte, in Laubwäldern offenbar nicht seltene Art wegen ihrer ausgeprägten Neigung zur Ringbildung als Cytophaga anularis zu bezeichnen.

Tab. 7. Einfluß von Zelluloseabbauprodukten[2]) auf die Zellulosezersetzung in A-Lösung.

Organismus	%	Grenzdextrin	Dextrin	Cellotetraose	Cellotriose	Cellobiose	Dextrose
Cellvibrio fulva	—	×	×	×	×	×	×
	0,01	×	×	×	×	×	×
	0,1	×	×	×	(×)	×	×
	1	×	×	—	—	—	(×)
Cellvibrio vulgaris	—	×	×	×	×	×	×
	0,01	×	×	×	×	×	×
	0,1	×	×	×	×	×	×
	1	×	×	—	—	—	(×)
Cytophaga globulosa	—	×	×	×	×	×	×
	0,01	×	×	×	×	×	(×)
	0,1	×	×	(×)	(×)	—	—
	1	×	×	—	—	—	—
Cytophaga silvestris	—	×	×	×	×	×	×
	0.01	×	×	×	×	×	×
	0,1	×	×	×	×	×	(×)
	1	×	×	—	—	—	—
Cytophaga anularis	—	×	×	×	×	×	×
	0,01	×	×	×	×	×	×
	0,1	×	×	×	×	×	(×)
	1	×	×	—	—	—	—

× = starke Zellulosezersetzung, (×) = schwache Zellulosezersetzung, — = keine Zellulosezersetzung.

Bevor wir zur kurzen Beschreibung einiger weiterer Cytophaga-Stämme übergehen, die noch nicht ernährungsphysiologisch untersucht werden konnten, seien die diesbezüglichen Daten für die drei bereits erwähnten Arten und die beiden Vibrionen zum Zwecke der vergleichenden Übersicht in Form einiger Tabellen kurz zusammengefaßt.

Gegenüber den in Tabelle 6 aufgeführten Kohlenstoffverbindungen verhalten sich die beiden Vibrio-Arten ungefähr gleich. Sie werden ent-

[1]) Krzemieniewska nennt zwei von ihr kultivierte Formen Cytophaga aurantiaca Winogradsky bzw. Cytophaga Hutchinsoni Winogradsky, ohne sich über die Zusammensetzung dieser Kulturen zu äußern, und irgendeinen Beweis dafür zu bringen, daß diese mit den von Winogradsky auch nur als Rohkultur gezüchteten tatsächlich übereinstimmen.

[2]) Diese Substanzen wurden uns freundlicherweise von Herrn Prof. Dr. Heß (Kaiser-Wilhelm-Institut für Chemie) zur Verfügung gestellt, wofür wir auch an dieser Stelle unseren Dank aussprechen. Wegen der Kostbarkeit der Verbindungen wurden die Versuche in kleinen 10 cm langen Röhrchen von 6 ccm Inhalt mit 0,5 ccm Nährlösung und entsprechenden kleinen Papierstreifen ausgeführt. Infolgedessen konnten keine feineren Unterschiede festgestellt werden.

sprechend ihrer weniger ausgeprägten Spezialisierung auf Zellulose im allgemeinen nicht so stark beeinträchtigt wie die Cytophagen. Das gilt besonders für Dextrose, die auf die Zellulosezersetzung durch Cytophaga globulosa am stärksten hemmend gewirkt hat. Da es sich bei dieser Art um eine Reinkultur handelt, kann angenommen werden, daß sie die Zellulose wahrscheinlich nicht bis zur Dextrose abbaut. Daß die anderen Cytophaga-Arten scheinbar weniger empfindlich sind, kann in der Tätigkeit der Symbionten begründet liegen.

Von den Bausteinen der Zellulose (Tab. 7) haben bei allen Arten nur die wasserlöslichen hemmend auf die Zellulosezersetzung gewirkt und zwar das kleinste Molekül (Dextrose) bei den Cytophagen am stärksten, bei den Vibrionen dagegen am schwächsten. Da Cytophaga globulosa auch gegenüber Cellobiose hochempfindlich ist, wird sie das Zellulosemolekül vielleicht nicht einmal bis zu diesem Zucker abbauen.

Tab. 8. Einfluß verschiedener Stickstoffverbindungen auf die Zellulosezersetzung in nitratfreier A-Lösung.

Organismus	%	Natrium-nitrat	Ammon-sulfat	Harn-stoff	α-Alanin	Aspa-ragin	Pepton Witte
Cellvibrio fulva	—	—	—	—	—	—	—
	0,01	+	+	+	—	—	—
	0,1	+	(+)	(+)	—		—
	1	+	—	(+)	—	(+)	+
Cellvibrio vulgaris	—	—	—	—	—	—	—
	0,01	+	+	+	—	—	—
	0,1	+	(+)	(+)	—	—	—
	1	(+)	—	—	—	(+)	+
Cytophaga globulosa	—	—	—	—	—	—	—
	0,01	+	+	+	—	—	—
	0,1	+	+	+	—	+	+
	1	—	(+)	—	—		—
Cytophaga silvestris	—	—	—	—	—	—	—
	0,01	+	+	+	—	(+)	—
	0,1	+	(+)	(+)	—	+	+
	1	—	—	—	—	+	—
Cytophaga anularis	—	—	—	—	—	—	—
	0,01	+	+	(+)	(+)	+	—
	0,1	+	+	—	+	—	+
	1	—	—	—	—	(+)[2]	—[2]

[1]) Das zahlenmäßige Verhältnis von Cytophagen zu Bakterien ist hier besonders stark zugunsten der ersteren verschoben.

[2]) Begleitbakterien sind gut gewachsen.

Bei Durchsicht der Tabelle 8 fällt auf, daß die organischen Stickstoffverbindungen mit Ausnahme von Harnstoff gar nicht oder weniger gut ausnutzbar sind als die anorganischen. Beachtenswert ist, daß α-Alanin nur von Cytophaga anularis als Stickstoffquelle ausgenutzt werden kann. Andererseits zeigt sich deutlich, daß Natriumnitrat für alle aufgeführten Zellulosezersetzer in einer Konzentration von 0,1% eine ausgezeichnete Stickstoffquelle ist.

Die 4 geprüften Stickstoffverbindungen in Tabelle 9 haben in gewissen Konzentrationen die zelluloselösende Tätigkeit aller Cytophaga- und

Vibrio-Arten gehemmt, am stärksten Ammonsulfat und Harnstoff, am schwächsten Asparaginat.

Tab. 9. Einfluß verschiedener anderer Stickstoffverbindungen neben Nitrat auf die Zellulosezersetzung in A-Lösung.

Organismus	%	Ammonsulfat	Harnstoff	α-Alanin	Natriumasparaginat
Cellvibrio fulva	—	+++	+++	+++	+++
	0,01	++	+++	+++	+++
	0,1	—	+++	++	++
	1	—	+	—	+
Cellvibrio vulgaris	—	+++	+++	+++	+++
	0,01	++	++	+	+
	0,1	—	—	+++	+
	1	—	—	—	+
Cytophaga globulosa	—	+ + +	+ + +	+++	+ + +
	0,01	+++	+++	+	+++
	0,1	+	+ +	(+)	+ +
	1	—	++	—	+ +
Cytophaga silvestris	—	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
	0,01	+++	+++	+ +	+++
	0,1	+	—	+	+ +
	1	—	—	—	+
Cytophaga anularis	—	+ + +	++	+ +	+ + +
	0,01	+ + +	+ +	+ +	++
	0,1	+	—	+	+
	1	—	—	—	+

Die folgenden 7 Cytophaga-Stämme sind z. T. später als die anderen in Waldstreu aufgefunden worden, und z. T. ist bei ihnen die Kombination mit einem einzigen Begleitorganismus trotz umfangreicher Bemühungen nicht immer so schnell gelungen. Deshalb sind sie noch nicht näher untersucht worden. Durch sehr oft wiederholte Plattengüsse mit dem Ziel, zu Cytophaga-Kulturen mit nur einem Symbionten zu gelangen, hat sich die Untersuchung dieser Formen naturgemäß stark verzögert, weshalb noch nicht mit Sicherheit behauptet werden kann, daß sie alle verschiedene Arten darstellen. Für einige aber steht bereits fest, daß sie besonderen Arten angehören. Sie seien zunächst erwähnt.

B. G. 1.

(Cytophaga crocea n. sp.)

Dieser nach der Methode von van Iterson (17) in S-Lösung aus Buchenstreu des Göttinger Waldes angereicherte Zellulosezersetzer, der sich dann auch wie Cytophaga anularis besser in A-Lösung weiterzüchten ließ, muß als die wirksamste aller von uns isolierten Cytophaga-Arten bezeichnet werden (Taf. II, Abb. 19). Filtrierpapier wird von ihr in A-Lösung bei 26° C und ebenso bei Zimmertemperatur schon innerhalb von 4—5 Tagen vollständig zerstört. Bei allen anderen Formen dauert dieser Vorgang länger, z. T. ganz beträchtlich länger. B. G. 1 steht hinsichtlich der Intensität der Zellulosezersetzung mit den beiden beschriebenen Cell-

vibrio-Arten auf ungefähr gleicher Stufe. Sie hat ein stärkeres Zellulosezersetzungsvermögen als Cytophaga anularis und bildet auf Filtrierpapier einen deutlicher gelben Farbstoff. Immerhin waren diese Unterscheidungsmerkmale nicht stichhaltig. Denn es handelte sich bei B. G. 1 zunächst noch um eine Rohkultur. Deshalb analysierten wir nach einem Plattenguß mit Zelluloseagar die Begleitflora, die sich als aus drei verschiedenen fluoreszierenden Bakterien bestehend erwies. Nach dem schon beschriebenen Verfahren versuchten wir dann, zu einer Symbiosekultur mit nur einem dieser Symbionten zu kommen. Das mißlang aber. Dagegen ließen sich alle drei verhältnismäßig leicht ersetzen durch das Begleitbakterium von Cytophaga anularis, das Bacterium a. Die Wahl dieses Begleitorganismus erwies sich als sehr günstig, insofern als diese neue Symbiosekultur einerseits mit derjenigen von Cytophaga anularis auf gleicher Basis unmittelbar verglichen werden konnte, und andererseits sich ihre zellulosezersetzende Fähigkeit nicht im mindesten verändert hat. Hieraus und ebenso aus dem Umstande, daß die eigelbe Farbe dieselbe geblieben ist, muß geschlossen werden, daß B. G. 1 mit Cytophaga anularis nicht identisch ist. Mit Bacterium a auf Papier in S-Lösung kultiviert, bildet B. G. 1 Zellringe wie Cytophaga anularis, der sie morphologisch auch sonst sehr ähnlich ist. Die optimale Wachstumstemperatur für B. G. 1 liegt bei + 20 bis + 28° C und der thermale Tötungspunkt bei + 49° C. Die orangegefärbte Cytophaga aurantiaca Winogradskys (45) hat diesem Autor nur in Rohkultur vorgelegen, weshalb ihre Artmerkmale nicht genau bekannt sein können. Wir möchten daher für die von uns in eindeutiger Symbiosekultur gezüchtete Art den Namen Cytophaga crocea in Vorschlag bringen.

B. G. 2.

Obwohl B. G. 2 wie Cytophaga crocea und anularis in S-Lösung angereichert wurde, gedeiht auch sie merkwürdigerweise bei der Weiterzucht besser in A-Lösung. Sie unterscheidet sich von allen anderen aus Waldstreu isolierten Arten durch die hellrötliche Färbung des von ihr angegriffenen Papiers, die mit dem Alter in einen bräunlich-gelben Ton umschlägt. Die Rohkultur enthält noch mindestens 4 verschiedene Bakterien. Mit der Beschränkung dieser Zahl auf die kleinstmögliche sind wir z. Zt. beschäftigt. Jedoch bieten sich hier besondere Schwierigkeiten insofern, als die drei leicht kultivierbaren Bakterien als Symbionten offenbar nicht genügen. Schon beim zweiten Plattenguß mit Zelluloseagar unter Zusatz dieser 3 Begleiter wächst keine einzige Kolonie mehr an. Zwei weitere Begleitorganismen konnten erst neuerdings in Kultur genommen werden, weil sie sich auf den gewöhnlich verwendeten Nährböden nicht rein züchten ließen, sondern nur auf einem synthetisch hergestellten Dextrose- oder Stärkeagar. Die Verdrängung aller Symbionten durch das Bacterium a ist hier nicht gelungen[1]).

Die Einzelzelle von B. G. 2 hat ungefähr die Größe derjenigen von Cytophaga silvestris, ist aber etwas dicker als diese.

Die optimale Wachstumstemperatur beträgt + 25 bis + 28° C.

[1]) Neuerdings ist die Beschränkung der Symbiosezahl auf ein einziges Bakterium geglückt. Das Zellulosezersetzungsvermögen und die hellrote Farbe der Kultur haben sich nicht geändert.

B. Fk. 3.
(Cytophaga flavicula n. sp.)

Wie die meisten anderen unserer Cytophaga-Kulturen ist B. Fk. 3 gelb gefärbt, gedeiht aber besser in S-Lösung als in A-Lösung. Sie wurde nach dem kombinierten Verfahren aus B. F. angereichert und wird von uns in zwei verschiedenen Kulturen weitergezüchtet, von denen die eine ein gelbes und die andere ein farbloses Begleitbakterium enthält. Beide Symbiosekulturen unterscheiden sich äußerlich nicht. Der thermale Tötungspunkt liegt bei + 43° C und das Wachstumsoptimum bei + 20 bis + 24° C. Bei + 26° C wird die Zellulose bereits schwächer angegriffen, bei + 28° C überhaupt nicht mehr. Auch bei dieser Form konnten bis jetzt keine irgendwie auffälligen Stadien im Entwicklungsverlauf festgestellt werden (Taf. II, Abb. 20). Wegen ihrer Eigenschaft, unabhängig von der Färbung der Begleitbakterien bei der Zersetzung der Zellulose einen blaß-gelblichen Farbstoff zu bilden, schlagen wir vor, die Art B. Fk. 3 als Cytophaga flavicula zu bezeichnen.

Außer den bis jetzt genannten verschiedenen Arten der Gattung Cytophaga haben wir noch einige weitere Stämme aus Waldstreuproben herausgezüchtet und in unsere Untersuchungen einbezogen. Sie alle verhalten sich nicht ganz gleich, zeigen aber doch sowohl unter sich als auch zu der soeben beschriebenen Art Cytophaga flavicula gewisse verwandtschaftliche Beziehungen. Sie wurden angereichert aus B. W., F. W., F. G. und F. H. Aus der letzteren Streuart konnte aber die Cytophaga aus uns noch unbekannten Gründen nicht mit den beschriebenen Methoden gezüchtet werden. Sie wurde immer nur nach der kombinierten Methode, also in unmittelbarer Berührung mit der Streu auf dem Papier beobachtet. Alle diese Formen unterscheiden sich morphologisch nicht von Cytophaga flavicula, sind wie diese schwach gelb gefärbt, und haben ungefähr dasselbe Temperaturoptimum und denselben thermalen Tötungspunkt.

Da sie aber sämtlich zur Zeit noch mit anderen Begleitfloren vergesellschaftet sind, kann über ihre Artzugehörigkeit vorläufig nichts ausgesagt werden. Immerhin besteht die Möglichkeit, daß alle oder einige von ihnen mit Cytophaga flavicula identisch sind. Z. B. hat sich schon gezeigt, daß F. G. mit einem Bakterium und einem Pilz vergesellschaftet ist und nur in S-Lösung gedeiht, F. W. dagegen nur mit Bakterien als Symbionten besser in A-Lösung. Wurde aber der Pilz von F. G. der Kultur F. W. zugesetzt, dann war deren Wachstum in S-Lösung ebenfalls weit besser als in A-Lösung.

Im ganzen betrachtet, lassen sich die aufgeführten, in Waldstreu lebenden Cytophaga-Arten morphologisch in zwei Gruppen einteilen, in diejenigen mit und diejenigen ohne Mikrocysten, von denen die erstere nur in einer Art aus B. Fk. vorliegt.

Daß es verschiedene Arten mikrocystenbildender Cytophagen gibt, kann u. a. aus den Untersuchungsergebnissen von Geschers (11) geschlossen werden, der Kulturen beschrieben hat mit „Kokken" jeweils verschiedenen Durchmessers.

Alle Cytophaga-Arten bilden als spezifische Zellulosezersetzer eine in sich geschlossene morphologisch-physiologisch einheitliche Mikroorganismengruppe von größter Bedeutung im Haushalt der Natur. Wir

können sie nicht zu den echten Bakterien zählen. Auf Grund ihrer Morphologie und ihres eigenartigen Verhaltens, das in vielen Punkten an das der Myxobakterien erinnert, erscheint es auch uns, der Anregung Krzemieniewskas (25) folgend, als das Gegebenste, diese Mikroorganismen im System in unmittelbarer Nachbarschaft der Myxobakterien einzuordnen.

Schlußbetrachtungen.

Wie die obigen Darlegungen zeigen, haben wir aus den verschiedenen Streuproben eine Anzahl verschiedener zellulosezersetzender Mikrobenarten züchten können. Mit der von uns angewandten Methodik war es uns aber nicht möglich, Formen zu finden wie Mycococcus cytophagus Bokor (4), Itersonia ferruginea Rippel et Flehmig (10), ferner Vertreter der Gattung Cellfalcicula Winogradsky (45) oder eine Art, die der Microspira agarliquefaciens Gray et Chalmers (12) entspräche. Andererseits dürfte es wohl keinem Zweifel unterliegen, daß die etwa von Baker (1, 2) beschriebenen Zellwandzerstörer mit einer mikrocystenbildenden Cytophaga, teils vielleicht auch mit Itersonia ferruginea identisch sind. van Itersons (17) Rohkulturen enthielten, wie aus der von ihm veröffentlichten Abbildung ersichtlich ist, wahrscheinlich ebenfalls beide Gattungen, Cytophaga und Itersonia, die deutlich verschiedene Zellformen aufweisen. Offenbar ist auch der 1912 von Merker (26) Micrococcus cytophagus genannte Zellulosezersetzer verwandt oder identisch mit Itersonia, während die von Henneberg (14) mit besonderen Artnamen belegten „Kokken" aus dem Darm des Menschen vielleicht nichts anderes darstellen als Mikrocysten irgendwelcher Cytophaga-Arten.

Quantitative Untersuchungen mit den verschiedenen Zellulosezersetzern sind bisher von uns noch nicht ausgeführt worden. So viel ist aber bereits zu erkennen, daß deutliche Unterschiede bestehen, und daß sich sämtliche Mikroorganismen schon jetzt in einige größere Gruppen von jeweils ungefähr gleich starker zelluloselösender Kraft einordnen lassen. Die am schnellsten wirkenden sind die beiden Vibrio-Arten und Cytophaga crocea.

Als für das praktische Ziel unserer Untersuchungen erstes Ergebnis soll noch besonders hervorgehoben werden, daß Zellulosezersetzer aus allen Waldstreuproben, die wirksamsten aber nur aus der sich verhältnismäßig sehr schnell und vollständig zersetzenden Laubstreu B. G. und B. W. gewonnen wurden, und daß die spezifischen Zellulosezersetzer, die Cytophaga-Arten, häufig in Laubstreu, vereinzelt in Fichtenstreu und niemals in Kiefernstreu aufzufinden waren. Wir können schon jetzt daraus folgern, daß in den Wäldern mit Rohhumusansammlungen unter anderem auch die Zellulosezersetzung gehemmt, wenn auch nicht unterbunden ist, weil solche Streu den schnell wirkenden Mikroorganismen wahrscheinlich keine geeigneten Lebensbedingungen bietet. Die Frage nach dem Warum können wir im Augenblick noch nicht restlos beantworten. Es ist aber anzunehmen, daß hierfür Reaktionsgrad und Basengehalt der Streu ausschlaggebend sind. Denn Laubstreu ist immer basenreicher als Kiefern- und Fichtenstreu, die besonders leicht Auflagetorf bilden, wenn der Boden nur geringe Basenvorräte enthält. Aus diesen beiden Nadelstreuarten konnten immer nur verhältnismäßig wenig und langsam wirkende Zellulosezersetzer gezüchtet werden, die außerdem bezeichnenderweise mehr oder weniger

säureresistent (Pilze, Cytophagen) und teilweise auch selbst Säurebildner sind. Im Einklang hiermit stehen die Untersuchungen von Großkopf (43), aus denen hervorgeht, daß selbst in unvollkommen sich zersetzenden Streuarten die Zellulose allmählich verschwindet.

Zusammenfassung.

Vollkommen und unvollkommen sich zersetzende Laub- und Nadelstreu mit dazugehörigen Böden wurde auf darin vorkommende zellulosezersetzende Mikroorganismen untersucht.

An der Zellulosezersetzung wesentlich beteiligte thermophile Arten wurden bis jetzt nicht aufgefunden.

Anaerobe zellulosezerstörende Bakterien fanden sich in einigen Laub- und Nadelstreuproben. Von aeroben Arten konnten Pilze aus jeder untersuchten Waldstreu isoliert werden. Sie sind nicht auf Zellulose spezialisiert und wirken nur verhältnismäßig langsam.

Aerobe, zellulosezersetzende Bakterienarten der Gattung Cellvibrio, und zwar Cellvibrio fulva nov. spec. und Cellvibrio vulgaris nov. spec., ließen sich nur aus Laubstreu von ungehemmter Zersetzungsfähigkeit isolieren. Sie bauen Zellulose und Stärke schnell ab.

Mehrere Arten der Gattung Cytophaga wurden aus vollkommen und unvollkommen sich zersetzenden Laub- und Fichtenstreuproben gezüchtet. Davon wurden als neue Spezies aufgestellt: Cytophaga globulosa, Cytoph. silvestris, Cytoph. anularis, Cytoph. crocea und Cytoph. flavicula.

In Kiefernstreu wurden Vertreter dieser Gattung nicht gefunden. Die am intensivsten Zellulose abbauende Art Cytophaga crocea stammt aus sehr basenreicher Laubstreu.

Alle untersuchten Cytophaga-Stämme sind, soweit bekannt, ausschließlich auf Zellulose als Kohlenstoffquelle angewiesen.

In Reinkultur gedeiht nur eine der isolierten Cytophaga-Arten, und zwar die Mikrocysten bildende Cytophaga globulosa, während die anderen auf einen oder mehrere Symbionten angewiesen sind.

Der Entwicklungsverlauf der Mikrocysten bildenden Reinkultur und einiger Symbiosekulturen wurde genauer verfolgt und ausführlich beschrieben.

Daß es sich in den Fällen, in denen die Reinzucht nicht gelang, um Symbiosen handelt, ließ sich mit Hilfe einer besonderen Methodik beweisen.

Literatur.

1. Baker, F. R., Preliminary note on the rôle of coccoid microorganisms in the disintegration of cell-wall substances. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 84. 1931. S. 452—454.) — 2. Baker, F. R., Studies in the microbiology of organisms associated with the disintegration of vegetable remains etc. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 17—44.) — 3. Bojanovsky, R., Über eisenbedürftige zellulosezerstörende Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 1—16.) — 4. Bokor, R., Mycococcus cytophagus n. sp. 1929 (Spirochaeta cytophaga Hutchinson und Clayton 1919), Untersuchungen über aerobe, bakterielle Cellulosezersetzung mit besonderer Berücksichtigung des Waldbodens. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 1. 1930. S. 1—34.) — 5. Cholodny, N., Über eine neue Methode zur Untersuchung der Bodenmikroflora. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 1. 1930. S. 620—652.) — 6. Christensen, H. R., Ein Verfahren zur Bestimmung der

cellulosezersetzenden Fähigkeit des Erdbodens. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 27. 1910. S. 449—451.) — 7. Dubos, R. J., Influence of the environmental conditions on the activities of cellulose decomposing organisms in the soil. (Ecology. Vol. 9. 1928. p. 12—27.) — 8. Dubos, R. J., The decomposition of cellulose by aerobic bacteria. (Journ. of Bact. Vol. 15. 1928. p. 223—234.) — 9. Fehér, D., Untersuchungen über die Mikrobiologie des Waldbodens. S. 99 unten. Berlin (J. Springer) 1933. — 10. Flohmig, T., Untersuchungen über aerobe, bakterielle Zellulosezersetzung. Diss. Göttingen 1932. — 11. Gescher, N. v., Über zellulosezersetzende Bakterien. (Faserforschung. Bd. 2. 1922. S. 28—40.) — 12. Gray, P. H. H., and Chalmers, C. H., On the stimulating action of certain organic compounds on cellulose decomposition by means of a new aerobic microorganism that attacks both cellulose and agar. (Ann. Appl. Biol. Vol. 11. 1924. p. 324—338.) — 13. Großkopf, W., Wie verändern sich stofflich und morphologisch die Fichtennadeln bei der Bildung von Auflagehumus in geschlossenen Fichtenreinbeständen? (Tharandter Forstl. Jahrb. Bd. 79. 1928. S. 343—362.) — 14. Henneberg, W., Untersuchungen über die Darmflora des Menschen mit besonderer Berücksichtigung der jodophilen Bakterien im Menschen- und Tierdarm sowie im Kompostdünger. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 55. 1922. S. 242—281.) — 15. Hutchinson, H. B., and Clayton, J., On the decomposition of cellulose by an aerobic organism (Spirochaeta cytophaga n. sp.). (Journ. Agric. Sc. Vol. 9. 1919. p. 143—173.) — 16. Issatschenko, B., und Wackenhut, A., Einige Beobachtungen über den Entwicklungszyklus eines die Zellulose zersetzenden Organismus. (Arch. Biol. Wissensch. Bd. 32. 1932. S. 484—490.) [Russ. m. dtsch. Zusfassg.] — 17. Iterson jun., C. van, Die Zersetzung von Zellulose durch aerobe Mikroorganismen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 11. 1904. S. 689—698.) — 18. Jensen, H. L., Notes on a cellulose decomposing soil fungus of an unusual character. (Proc. Linn. Soc. New South Wales. Vol. 55. 1930. p. 699—707. Ref.: Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 84. 1931. S. 458.) — 19. Jensen, H. L., The microbiology of farmyard manure decomposition in soil. II. Decomposition of Cellulose. (Journ. Agric. Sc. Vol. 21. 1931. p. 81—100.) — 20. Kalnins, A., Aerobic soil bacteria that decompose cellulose. (Act. Univers. Latv., Serie 1. Vol. 2. 1930. p. 221—303.) — 21. Kellermann, K. F., and McBeth, I. G., The fermentation of cellulose. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 34. 1912. S. 485—494.) — 22. Kellermann, K. F., McBeth, I. G., Scales, F. M., and Smith, N. R., Identification and classification of cellulose-dissolving bacteria. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 39. 1913. S. 502—522.) — 23. Krzemieniewska, H., Le cycle évolutif de Spirochaeta cytophaga Hutchinson et Clayton. (Act. Soc. Bot. Poloniae. T. 7. 1930. p. 507—519.) — 24. Krzemieniewska, H., Contribution à l'étude du genre Cytophaga (Winogradsky). (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 394—408.) — 25. Krzemieniewski, H. und S., Zur Morphologie der Myxobakterienzelle. (Act. Soc. Bot. Poloniae. T. 5. 1928. p. 46—90.) [Poln. m. dtsch. Zusfassg.] — 26. Merker, E., Parasitische Bakterien auf Blattern von Elodea. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 31. 1912. S. 578—590.) — 27. Omelianski, V., Über die Gärung der Zellulose. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 8. 1902. S. 193—201, 225—231, 257—263, 289—294, 321—326, 353—361, 385—391.) — 28. Omelianski, V., Über die Isolierung der Nitrifikationsmikroben aus dem Erdboden. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 5. 1899. S. 537—549.) — 29. Rabenhorst, L., Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Zweite Auflage. Leipzig 1907. — 30. Rokitzkaja, A. I., Biologische Phasen des im Erdboden Zellulose zersetzenden Mikroben Spirochaeta cytophaga und seine Verbreitung im Boden der Ukraine. (Pedology. Nr. 3. 1933. p. 209—224. [Russisch.] Ref.: Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 90. 1934. S. 91—92.) — 31. Rossi, G., Polemische Bemerkungen zur Arbeit H. J. Conn: The Cholodny Technic for the microscopic study of the soil microflora. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 476—477.) — 32. Rubentschik, L., Zur anaeroben Zellulosezersetzung in Salzseen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 182—186.) — 33. Sack, J., Cellulose angreifende Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 62. 1924. S. 77—80.) — 34. Scales, F. M., Bot. Gazette. Bd. 60. 1915. S. 49; zitiert nach Thaysen and Bunker. — 35. Scales, F. M., A new method of precipitating cellulose for cellulose agar. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 44. 1916. S. 661—663.) — 36. Sée, P., Les maladies du papier piqué. O. Doin et fils. Paris 1919; zitiert nach Thaysen and Bunker. — 37. Skinner, C. E., The decomposition of cellulose by type strains of certain bacteria. (Zentralbl. f. Bakt. Abt II. Bd. 78. 1929. S. 508—512.) — 38. Snieszko, St., Beiträge zur Kenntnis der cellulosezersetzenden Bakterien.

(Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 78. 1929. S. 375—380.) — 39. Snieszko, St., The isolation of a thermophilic cellulose fermenting organism. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 403—409.) — 40. Snieszko, St., and Kimball, N., Studies of the bacteria commonly found in association with the thermophilic cellulose-fermenting organism. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 393—403.) — 41. Stapp, C., und Bortels, H., Der Pflanzenkrebs und sein Erreger Pseudomonas tumefaciens. II. Mitteilung: Über den Lebenskreislauf von Pseudomonas tumefaciens. (Ztschr. f. Parasitenkde. Bd. 4. 1931. S. 101—125.) — 42. Tetrault, P. A., The fermentation of cellulose at high temperatures. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 81. 1930. S. 28—45.) — 43. Thaysen, A. C., and Bunker, H. J., The microbiology of cellulose, hemicelluloses, pectin and gums. Oxford University Press, London 1927. — 44. Waksman, S. A., and Skinner, C. E., Microorganisms concerned in the decomposition of cellulose in the soil. (Journ. of Bact. Vol. 12. 1926. p. 57—84.) — 45. Winogradsky, S., Étude sur la microbiologie du sol (Quatrième mémoire). Sur la dégradation de la cellulose dans le sol. (Ann. Inst. Pasteur. T. 43. 1929. p. 549.) — 46. Winogradsky, S., Sur la décomposition aerobie de la cellulose par les bactéries. Travaux récents. (Bull. Inst. Pasteur. T. 30. 1932. p. 369—379.)

Tafelerklärung.

Sämtliche Mikrophotogramme wurden mit „Foku" (Zeiss) unter Verwendung von $^1/_{12}$a Öl-Immersion (Leitz) und Okular H (Zeiss) aufgenommen und dann auf insgesamt 1250 × vergrößert.

Praparat 1, 2 und 11 gefärbt mit alkalischem Methylenblau; Präparat 3—5, 7—10 und 12—20 gefärbt mit Erythrosin-Gentianaviolett nach Winogradsky.

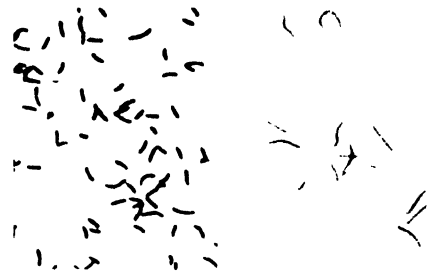
Tafel I.

Abb. 1. Anaerobe Zellulosezersetzer aus Buche-Göttingen (B. G.). Ausstrich.
Abb. 2. Anaerobe Zellulosezersetzer aus Fichte-Wannsee (F. W.). Ausstrich.
Abb. 3. Collvibrio fulva. Hängetropfen, angetrocknet.
Abb. 4—5 und Abb. 7—10. Cytophaga globulosa, Hängetropfen, angetrocknet.
Abb. 4. Anfangsstadium der „Stern"-Bildung.
Abb. 5. Fortgeschrittenes Stadium der „Stern"-Bildung.
Abb. 6. Vollendetes Stadium der „Stern"-Bildung, lebend, Dunkelfeld.
Abb. 7. „Sterne" bei hoher Einstellung.
Abb. 8. Dieselben bei tieferer Einstellung. Mikrocysten im Innern der „Sterne" sichtbar.
Abb. 9. Zerfallender „Stern" mit unvollkommenen und reifen Mikrocysten.
Abb. 10. Dasselbe.

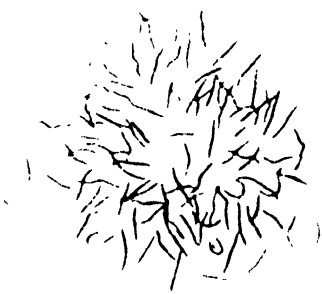
Tafel II.

Abb. 11—13. Cytophaga globulosa.
Abb. 11. Übergangsstadien bei der Encystierung. Ausstrich.
Abb. 12. Reife Mikrocysten in älterer Kultur am Rand des Hängetropfens angetrocknet.
Abb. 13. „Haken"-Bildungen am Rand eines „Sternes". Hängetropfen, angetrocknet.
Abb. 14—16. Cytophaga silvestris. Hängetropfen, angetrocknet.
Abb. 14. Beginnende „Stern"-Bildung. Daneben ein Stäbchen des Symbionten.
Abb. 15. Fortgeschrittenes Stadium eines „Sternes".
Abb. 16. Rand eines „Stern"-Haufens mit Begleitbakterien.
Abb. 17—18. Cytophaga anularis. Ausstriche.
Abb. 17. Kultur in A-Lösung mit Bakterium a.
Abb. 18. Kultur in S-Lösung mit drei verschiedenen Begleitbakterien. Ringbildung.
Abb. 19. Cytophaga crocea mit Bacterium a. Hängetropfen, angetrocknet.
Abb. 20. Cytophaga flavicula mit Begleitbakterium. Ausstrich.

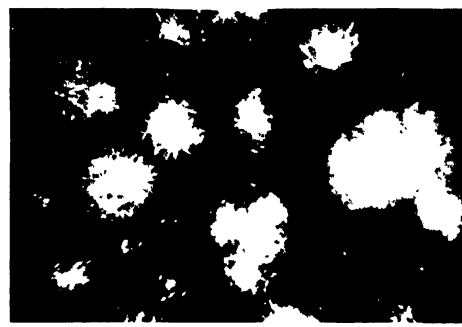
1 2



3 4

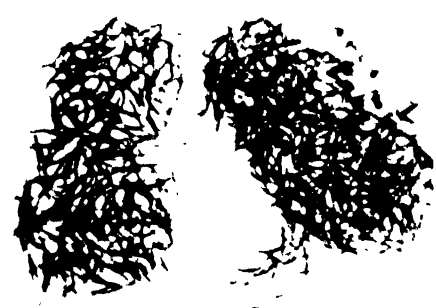


5

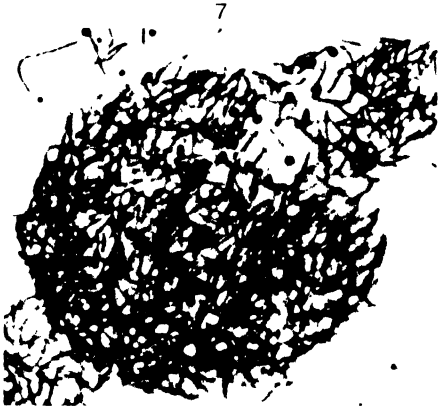


6

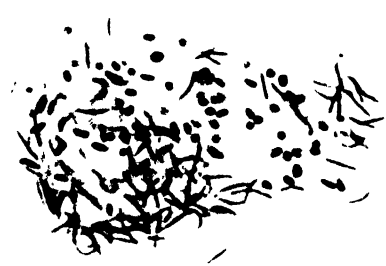
7



8



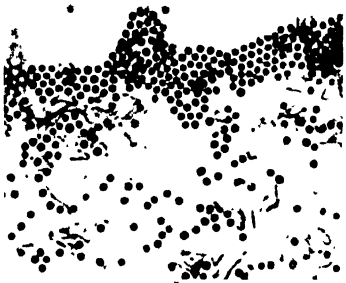
9



10

Verlag von Gustav Fischer in Jena

11



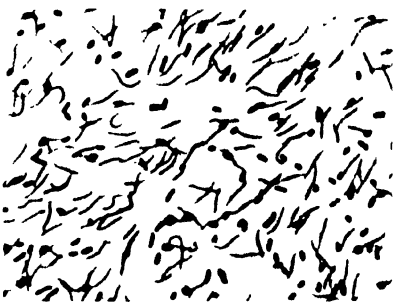
12

13

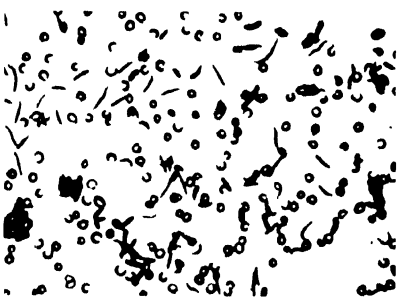
14

15

16



17



18

19

20

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Nachdruck verboten.

Über den Entwicklungszyklus der Milchsäurebakterien.

[Aus dem mikrobiologischen Laboratorium des Instituts für Tierzucht in Moskau.]

Von **K. J. Rudakow.**

Mit 9 Abbildungen im Text.

Beim Studium mikroskopischer Präparate der Kulturen von Milchsäurebakterien (Bact. casei, Bact. Bulgaricum u. a.) im Alter bis zu 24 Std. fielen uns die äußerst großen Schwankungen in der Größe der einzelnen Zellen auf. Nicht bloß die isoliert liegenden, sondern auch die zu mehr oder weniger langen Fäden vereinigten Stäbchen weichen in ihrer Größe nicht selten bedeutend nach oben und unten von den Grenzen ab, die häufig bei ihrer Charakteristik gegeben werden. In der Tab. 1 führen wir in Durchschnittszahlen die Resultate der Massenmessung des Bact. casei in den Kulturen verschiedenen Alters an.

Tab. 1. Der in den Kulturen beobachtete Prozentsatz der Zellen verschiedener Größe von Bact. casei.

Zellengröße	Menge der Zellen in Prozenten Alter der Kultur							
	20 Min.	40 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.	150 Min.	180 Min.	28 Std.
0,2—0,5 μ	—	—	6	9	6	13	26,2	—
0,5—1,0 μ	—	—	13,2	3,3	6,6	23,1	3,3	26,2
1,0—1,5 μ	59,4	66,0	33,0	56,1	36,3	9,9	23,1	39,6
1,5—2,0 μ	26,4	26,4	23,1	13,2	16,5	23,1	16,5	19,8
2,0—3,0 μ	13,2	6,6	19,8	16,5	16,5	19,8	23,1	6,6
> 3 μ	—	—	3,3	—	—	—	—	—

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, erscheinen in den jungen Kulturen von Bact. casei (angefangen von 60 Min.), sich allmählich in prozentualem Verhältnis vergrößernd, sehr kleine Zellen von 02.—0.3 μ im Durchmesser; sie haben eine fast kugelförmige Gestalt und erinnern, mit den langen, stäbchenförmigen Bakterien verbunden, eher an Knospen (bei der Hefe), als an stäbchenförmige Bakterien. In einzelnen Fällen bilden sich solche knospenförmige Auswüchse nicht an den Enden der Stäbchen oder Bakterienketten, sondern an den Seiten derselben.

Da die knospenförmigen Auswüchse vorwiegend in jungen Kulturen, die ein Alter von bloß einigen Stunden haben, beobachtet werden, so ist es ganz verständlich, warum diese Bildungen der Aufmerksamkeit der meisten Forscher, die es vorwiegend mit eintägigen Kulturen zu tun haben, entgehen. Dennoch wurde die Bildung solcher knospenförmiger Auswüchse in den Kulturen der Milchsäurebakterien auch bereits früher in der Literatur angegeben. Sie wurden z. B. von Löhnis [1]) beschrieben, der sie für Gonidien ansah, die durch die Hülle der Mutterzelle hindurchsproßten. Löhnis

[1]) Handbuch der Milchwirtschaft, herausgegeben von W. Winkler. Bd. I. S. 145.

gibt Abbildungen, welche diese knospenartigen Bildungen bei den Milchsäurebakterien wiedergeben (Bd. 1. Teil 1, S. 145, Abb. 11).

Da diese knospenartigen Auswüchse unseren Beobachtungen nach völlig gesetzmäßig vorwiegend in den ersten Stunden der Entwicklung der Milchsäurebakterien auftreten, so vermuteten wir, daß wir es im vorliegenden Falle mit einem bestimmten Entwicklungsstadium zu tun haben. Unsere nächste Aufgabe war, die Rolle und die Stelle dieser Auswüchse im Entwicklungszyklus festzustellen und die Bedingungen für ihre Bildung aufzuklären.

Als Objekt für unsere Untersuchungen benutzten wir vorzugsweise die Laboratoriumskultur von Bact. casei (Sammlungsstamm), die durch folgende kulturelle und morphologische Besonderheiten charakterisiert ist:

Größe: Länge 1—2 μ, Dicke 0,3—0,4 μ.

Körnigkeit: Deutlich erkennbar.

Verhalten gegen Sauerstoff: Fakultativer Anaërobier.

Verhalten gegen Temperatur: Minimum zwischen 25° bis 15°, Optimum zwischen 37° bis 42°, Maximum zwischen 52°.

Energie der Säurebildung: $0{,}25 \times 10^{-10}$ mg Milchsäure auf 1 Zelle in 1 Std.

Säureresistenz: Bis zu 320° Törner in der Milch.

Abb. 1. Entwicklungsschema des Milchsäurebakteriums.

Oberflächenwachstum auf Nährböden: 1. Fleischpeptonagar: kein Wachstum; 2. Schottenagar mit Pepton: charakteristische durchsichtige Kolonien nicht über 2 mm im Durchmesser.

Verhalten gegen verschiedene Kohlenstoff-Quellen: Vergärt Glykose, Laktose, Laevulose, Galaktose, Maltose; vergärt nicht: Saccharose, Glyzerin, Mannit, Dextrin; nach dem System Orla-Jensen wird unsere Kultur mit Thermobacterium helveticum identifiziert; nach dem System von Löhnis gehört sie zum Typus Bact. casei Leichm.

Zunächst wurden von uns längere Beobachtungen über die Besonderheiten der Vermehrung dieser Kulturen angestellt. Die 2tägige Kultur von Bact. casei, die bei der mikroskopischen Untersuchung aus körnigen, sich ihrer Größe nach wenig voneinander unterscheidenden Stäbchen besteht, wurde in Milch und Schotten mit Pepton (1 ccm Kultur auf 10 ccm Nährboden) eingeimpft. Inkubation im Thermostat bei 40°. Alle 20 Min. wurden mikroskopische Präparate angefertigt (Färbung mit Methylenblau). Das Studium der Präparate ergab, daß im Laufe der ersten 1½ Std. an den Enden der Stäbchen (seltener seitlich) Auswüchse anfangs von fast Punktgröße (Abb. 2) in regelmäßiger Kreisform erscheinen. Allmählich werden diese Auswüchse größer, ziehen sich in die Länge (Abb. 3), und endlich nach Verlauf von 6—8 Std. besteht die Kultur wieder fast ausschließlich aus der Größe und Dicke nach gleichmäßigen Stäbchen.

Diese Beobachtungen veranlaßten uns, den Schluß zu ziehen, daß die kleinen, sich an den Enden der Stäbchen bildenden Auswüchse vielleicht wirklich mit den reproduktiven Funktionen, analog den Knospen bei der Hefe, verknüpft sind.

Zwecks Feststellung der wahren Natur dieser Bildungen, ihrer Entstehung und ihrer Rolle im Entwicklungszyklus dieser Bakterien stellten wir eine Reihe längerer Beobachtungen in lebenden Kulturen (im hängenden Tropfen) an einzelnen Zellen von Bact. casei an. Die Beobachtungen wurden bei 36—37° unter dem Mikroskop mit Hilfe eines Heiztischchens ausgeführt. Die Beobachtungen ergaben, daß bei jeder beliebigen körnigen Zelle von Bact. casei nach Verlauf einer gewissen Zeitspanne nach Überimpfung in einen frischen Nährboden folgende Erscheinungen beobachtet werden konnten. Etwa 2 Std. nach Versuchsbeginn pflegt an einem der Enden des mit dem Auge fixierten Stäbchens ein winzig kleines Körnchen (außerhalb der Hülle) zu erscheinen, dessen Größe an der Grenze der Auflösungsfähigkeit des Mikroskops liegt. Allmählich vergrößert sich das Körnchen, zieht sich in die Länge und verwandelt sich schließlich in ein Stäbchen, indem es dabei mit der „Mutterzelle" verbunden bleibt. Schematisch sind die Stadien dieses Vorgangs auf der Abb. 1 dargestellt.

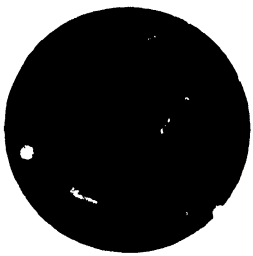


Abb. 2.

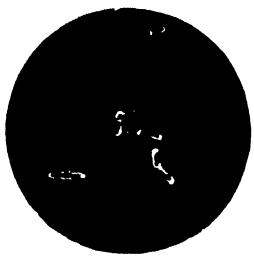


Abb. 3.

Abb. 2. Kultur des Bact. casei in Milch nach 1½ Std., gefärbt mit Methylenblau. 1 : 1000.

Abb. 3. Kultur des Bact. casei in Milch nach 4 Std., gefärbt mit Methylenblau. 1 : 1000.

Bisweilen gelingt es zu beobachten, daß das aus der „Mutterzelle" — dem Stäbchen - - hervorgegangene Körnchen sich von ihr ablöst und auf eine ziemlich bedeutende Entfernung abspringt. In den ersten Momenten befindet sich dieses Körnchen in äußerst schneller Bewegung (Brownscher Bewegung?), unordentliche Schwankungen ausführend. Allmählich sinkt die Energie der Bewegung; das Körnchen beginnt zu schwellen, vergrößert sich und verlängert sich schließlich zu einem Stäbchen.

Es ist zu bemerken, daß während der ganzen stundenlang dauernden Beobachtungszeit wir kein einziges Mal die Teilung der Zelle von Bact. casei durch Bildung einer Scheidewand beobachteten. Dieser Umstand veranlaßt uns, unwillkürlich die Frage einer Revision der Vermehrungsweisen der Milchsäure- und vielleicht auch anderer, besonders körniger Bakterien auf die Tagesordnung zu setzen. Beim Betrachten der Abb. 1 wird es klar, daß, wenn man die Zwischenstadien der Entwicklung der Stäbchen nicht im Auge behält, die letzte Phase des Prozesses, die Vorstellung der typischen Zellteilung durch eine Scheidewand, erwecken kann, während wir es tatsächlich mit einem Vorgang zu tun haben, der eher an Knospung oder an die Vermehrung der Gonidien erinnert, in Analogie der bei den fadenförmigen Bakterien beobachteten Vermehrung.

Zur Bestätigung unserer mikroskopischen Beobachtungen war es notwendig, vor allem näher an die Aufklärung der Natur und der Entstehung

der Körnchen-„Gonidien" heranzutreten. Am einfachsten war es, die Vermutung zuzulassen, daß die sog., für die Milchsäurebakterien charakteristischen „metachromatischen Körnchen" Gonidien sind, welche, durch die Zellhülle nach außen dringend, sich befreien und neuen Zellen Leben schenken.

Die Natur dieser nicht bloß für die Milchsäurebakterien (Körnchenbazillus), sondern auch für eine ganze Reihe anderer Bakterien sehr charakteristischen Körnchen ist bis zur jüngsten Zeit unklar geblieben. Diese Körnchen, die den Namen „metachromatische" Körnchen, Volutin, Babes-Ernstsche Körnchen usw. tragen, werden von verschiedenen Autoren entweder als den Eiweißstoffen und der Nukleinsäure nahestehende Reserveablagerungen oder als Stoffe der Chromatinordnung bestimmt. In der jüngsten Zeit ist der Frage der Natur der Körnchen bei Bact. bulgaricum die Arbeit L. v. Wikullil[1]) gewidmet, der, verschiedene Färbungsmethoden benutzend, die Identität zwischen den Körnchen bei Bact. bulgaricum und Coryn. diphtheriae feststellt und auf Grund der

Abb. 4.

Abb. 5.

Abb. 4. Kultur des Bact. casei auf Schotte-Agar, gefärbt mit Methylenblau. 1 : 1000.

Abb. 5. Emulsion der Kultur des Bact. casei nach 2 minutenlanger Behandlung mit 0,2% H_2O_2-Lösung. Mit Methylenblau gefärbt. 1 : 1000.

Färbungsreaktionen sie als Derivate der Nukleinsäure charakterisiert. Wir versuchten unsererseits die Natur dieser Körnchen festzustellen, indem wir verschiedene Methoden der zytologischen Färbung benutzten. Ohne das ganze von uns in dieser Richtung erhaltene experimentelle Material mitzuteilen, bemerken wir, daß die Körnchen von Bact. casei eine für das Chromatin typische Färbung bei der Benutzung des Hämatoxylins (nach dem Pappenheimschen Verfahren) und ebenso bei der Färbung mit Methylgrün (nach Prazmowsky) geben.

Um die Rolle der „metachromatischen Körnchen" im Leben der Milchsäurebakterien festzustellen, versuchten wir vor allem die Isolierung derselben vom Plasma und der Hülle zu erreichen. Wir verfolgten dabei das Ziel, ein solches Reagens zu finden, welches das Plasma und die Hülle zerstört und die Körnchen dabei intakt läßt. Nach einer Reihe von Versuchen wählten wir Perhydrol (H_2O_2). Die Agarkultur von Bact. casei (Abb. 4) wurde 2–5 Min. lang mit einer 0,2proz. Perhydrollösung behandelt. Diese Behandlung, welche die Hülle und das Plasma zerstört, gibt uns die Möglichkeit, freie „Körnchen" zu erhalten, wie aus der Abb. 5 zu ersehen ist. Schwächere Perhydrollösungen oder eine kürzere Behandlungsdauer geben

[1]) Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 87. S. 59.

nicht die gewünschten Resultate. Eine stärkere Konzentration oder eine längere Dauer der Behandlung mit Perhydrol führt dagegen den Untergang oder die Inaktivierung der Kultur herbei.

Eine Emulsion der Bakterien wird nach der Behandlung mit Perhydrol in das frische Nährsubstrat (Schotte mit Pepton) eingeführt und die Entwicklung der Kultur wird mikroskopisch verfolgt. Wie aus den beigefügten Abbildungen zu ersehen ist, schwellen die Körnchen ziemlich rasch an (Abb. 6), beginnen darauf sich in die Länge zu ziehen (Abb. 7) und verwandeln sich schließlich in die der Form nach üblichen Zellen. Der ganze Prozeß ist in 6—8 Std. zu Ende.

Ähnliche Ergebnisse gelingt es zu erreichen, wenn man schwache Chlorkalklösungen anwendet. Eine Differenzierung der Körnchen läßt sich gleichfalls erreichen, wenn man eine 0,2proz. Sodalösung anwendet. Jedoch findet in diesem Falle eine Zerstörung der Hülle nicht statt.

Diese Versuche gestatten es, vom Vorhandensein eines bestimmten Entwicklungszyklus bei den Milchsäurebakterien zu sprechen. Es kann

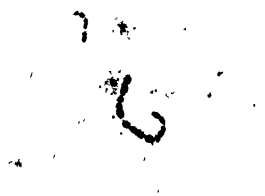


Abb. 6.

Abb. 7.

Abb. 6. Kultur des Bact. casei in Schotte, nach 2 Std. (behandelt mit H_2O_2). Gefärbt mit Methylenblau. 1 : 1000.

Abb. 7. Kultur des Bact. casei in Schotte nach 4 Std. (behandelt mit H_2O_2-Lösung). Gefärbt mit Methylenblau. 1 : 1000.

eine gewisse Parallele zwischen dem Entwicklungszyklus dieser und einer Reihe anderer Bakterien, bei denen filtrierbare Formen festgestellt wurden, gezogen werden. In bezug auf die filtrierbaren Formen verschiedener Bakterien wird jedoch meistenteils angegeben, daß sie in einem Stadium eine längere Zeit existieren können, sich dabei wahrscheinlich vermehrend. In unserem Falle haben wir jedoch ein bloß kurze Zeit andauerndes Stadium der „Körnchen" und diese letzteren beginnen, wenn sie in ein frisches Nährsubstrat gebracht werden, sofort zu wachsen und verwandeln sich bald in „normale" Stäbchen.

Eine annähernde Messung dieser Körnchen-Gonidien ergibt eine Größe von ungefähr 0,2—0,3 μ. Es war für uns von Interesse, die Trennung der normalen stäbchenartigen Form von den „Gonidien" zu erreichen und die Entwicklung der letzteren zu verfolgen. Zu diesem Zwecke versuchten wir anfangs die üblichen Bakterienfilter: die Chamberland-Kerze, Tonfilter, Filter aus Kieselgur u. a. zu benutzen. Die Anordnung der Arbeit war folgende: Die Kultur von Bact. casei wurde nach Behandlung mit einer Perhydrollösung (und gleichfalls in einzelnen Versuchen auch ohne jede Behandlung) durch den einen oder den anderen sterilen Filter filtriert. Unmittelbar nach der Kultur wurde, zur Kontrolle, durch dasselbe Filter eine Kultur von Bact. prodigiosum durchgelassen. Mit dem Filtrat

der in ein besonderes steriles Reagenzgläschen gesammelten Kultur von Bact. prodigiosum wurde Fleischpeptonbouillon und Fleischpeptonagar infiziert. Nur in dem Falle, wenn das Filtrat der Kultur von Bact. prodigiosum als steril festgestellt war, wurde der Versuch als gültig angesehen. Mit dem Filtrat der Kultur von Bact. casei wurde sterile Milch infiziert.

Die Ergebnisse der ersten Versuche erwiesen sich als ziemlich bunt. In einer Reihe von Fällen koagulierte die Milch nach einer mehr oder weniger langen Zeit, in anderen Fällen trat die Koagulation nicht ein. Die Präparate aus der koagulierten Milch zeigten das Bild einer typischen Kultur von Bact. casei.

Der Umstand, daß die Koagulation der Milch nicht immer festgestellt wurde, zeigt, daß die Ausmaße der „Gonidien" stark variieren können. Am wahrscheinlichsten ist, daß die Koagulation der Milch nur in dem Falle stattfand, wenn in das Filtrat nicht die im Mikroskop sichtbaren „Gonidien", sondern kleinere ultramikroskopische filtrierbare Formen gerieten.

Abb. 8.

Abb. 9.

Abb. 8. Filtrat der Kultur des Bact. casei (Zellulosefilter). Mit Methylenblau gefärbt. 1 : 1000.

Abb. 9. Kultur des Bact. casei in Milch (mit dem Filtrat infiziert). Mit Methylenblau gefärbt. 1 : 1000.

Um die Trennung der stäbchenartigen Formen von den im Mikroskop sichtbaren „Gonidien" zu erreichen, versuchten wir das Glasfilter nach Schott anzuwenden. Bei der Benutzung dieses Filters konnten wir in der Tat kokkenförmige „Gonidien" von den stäbchenartigen Formen trennen. Auf der Abb. 8 sind deutlich Gonidien zu sehen, die durch das Filter hindurchgegangen sind. Bei der Infizierung steriler Milch durch dieses Filtrat erhielten wir nach 2 Tagen wieder eine typische Kultur von Bact. casei.

Die Arbeit mit dem Schottschen Filter ist jedoch außerordentlich schwierig, da man statt der Sterilisation im Autoklaven zum Durchfiltrieren verschiedener sterilisierender Lösungen greifen muß.

Viel bessere Resultate gelang es uns zu erreichen, wenn wir Zelluloidfilter anwandten, die in der letzten Zeit eine weite Verbreitung bei der Wasseruntersuchung[1]) gefunden haben. Bekanntlich kann die Dichtigkeit dieser Filter beliebig variiert werden, indem man das Verhältnis der einzelnen Ingredienzien (Azeton, Äthylalkohol, Amylalkohol) verändert. Zuletzt gelang es uns, die gewünschte Dichtigkeit des Filters zu erreichen, indem wir ihn nach folgendem Rezept anfertigten: zu 10 ccm 8proz. Azetonzelluloid-

[1]) Rasumow, A. S., „Mikrobiologie". Bd. 1. Heft 2. 1932. Dianowa und Woroschilowa, „Mikrobiologie". Bd. 1. Heft 3. 1932.

lösung (gereinigter Film Agfa) wird 1,5 ccm Äthylalkohol und 3,5 ccm Amylalkohol hinzugefügt. Nach der Filtration wird die Lösung auf Spiegelglas ausgegossen.

Die Filtrierung wurde mit Hilfe eines von A. S. Rasumow uns freundlichst zur Verfügung gestellten Apparates nach dem Typus des Seitzschen Filters ausgeführt. Wir benutzen die Gelegenheit, Herrn A. S. Rasumow an dieser Stelle dafür unseren herzlichen Dank auszusprechen. In allen Fällen wurde eine Kontrollfiltrierung der Kultur von Bact. prodigiosum ausgeführt.

Im Filtrat der auf diese Weise mit Hilfe des genannten Filters erhaltenen Kultur von Bact. casei ist es bei seiner mikroskopischen Untersuchung nicht schwer, die Anwesenheit von „Gonidien" in der Größe von ungefähr 0,2—0,3 μ festzustellen (Abb. 8). Bei der Infizierung steriler Milch durch dieses Filtrat erhielten wir eine Reinkultur vom typischen Bact. casei (Abb. 9).

Wir können also sagen, daß die Entwicklung der Stäbchen vom Typus Bact. casei durch das Zwischenstadium der „Gonidien" geht. Es ist sehr wahrscheinlich, daß eine solche Vermehrungsweise nicht bloß den Milchsäurebakterien, sondern auch anderen Stäbchen eigen ist.

Zusammenfassung.

1. Die Untersuchung mikroskopischer Präparate von Milchsäurebakterien vom Typus Bact. casei und eine längere Beobachtung ihrer Vermehrung im hängenden Tropfen haben uns die Möglichkeit gegeben, die Entwicklung von Körner – „Gonidien" — aus der Bakterienzelle festzustellen, die wieder zu Stäbchen auswachsen. Es ist uns nicht gelungen, eine Vermehrung der Zellen des Bact. casei durch Bildung einer Scheidewand festzustellen.

2. Durch Behandlung mit schwachen H_2O_2-Lösungen kann man das Plasma und die Hüllen zerstören und den Zerfall der Zellen zu einzelnen Körner-„Gonidien" erzielen. In frischen Nährmedien entwickeln sich diese Körner schnell und verwandeln sich in typische stäbchenförmige Zellen des Bact. casei.

3. Mittels verschiedener Bakterienfilter kann man die Stäbchenformen von den „Gonidien" trennen. Bei der Infizierung eines frischen Nährsubstrats mit dem Bact. casei-Filtrat entwickeln sich die „Gonidien" und weisen typische Stäbchenform auf.

4. Zugleich mit den im Mikroskop noch sichtbaren „Gonidien" der Bact. casei-Kultur bilden sich, anscheinend, auch ultramikroskopische, filtrierbare Formen.

Nachdruck verboten.

Melanogone, eine neue Gattung der Dematiaceen.

[Aus der mikrobiologisch-chemischen Abteilung der Biologischen Reichsanstalt.]

Von **H. W. Wollenweber** und **H. Richter.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Am Holz absterbender oder toter Baumwurzeln sowie verwitterten Balkenwerks, an unterirdischen oder wenig über dem Erdboden befindlichen Teilen vernachlässigter Stützen oder hölzerner Plattenbeläge finden sich nicht selten schwarze, mehr oder minder tiefgreifende, von Pilzfäden durchsetzte Stellen ohne auffälligen oberflächlichen Schimmelbesatz. Legt man solches Holz feucht, so entwickeln sich an einem spärlichen grauen Luftmyzel sehr bald schwärzliche Sporen meist einzeln an der Spitze von Seitengliedern der Hauptfäden oder am Scheitel der letzteren. Diese durch ihre doppelte derbe Umhüllung bei der Reife als Chlamydosporen sich kennzeichnenden Dauersporen (Fig. 2—4) lagern bei Trockenheit als schwarze, pulverige Schicht auf der Oberfläche oder bilden mit ihrem Myzel eine dünne, harte, zerbröckelnde Kruste, aus der sie in der Natur durch Regen leicht herausgewaschen oder in trockenem Zustande mit Wind verstäubt werden. Mikroskopisch lassen sich außer diesen ein- bis zweizelligen Chlamydosporen (einzellig 13,8 × 12 μ, zweizellig 20,5 × 12 μ) noch winzige, birnförmige, einzellige, zarte, durchscheinende Konidien (3,3 × 2 μ) erkennen. Sie sind leicht zu übersehen, und ihre Zugehörigkeit zu dem Pilz läßt sich in Proben aus der Natur nicht eindeutig nachweisen, da man sie gewöhnlich nur spärlich eingestreut, einzeln oder in kurzen Ketten im Chlamydosporenpulver vorfindet. Sie treten auch in Reinkultur insofern zurück, als sie erst in der 2. oder 3. Woche von seitlichen Ausstülpungen Chlamydosporen tragender Fäden abgeschnürt werden (Fig. 1 und 5), also nach Abschluß der Hauptentwicklung des Pilzes und im Gegensatz zu bekannten hellfarbigen Hyphomyzeten wie Fusarium und Cylindrocarpon, wo die der Verbreitung dienenden Konidien zuerst und die Chlamydosporen zuletzt entstehen.

Ohne höhere Fruchtform läßt sich dieser Pilz nur bei den „fungi imperfecti“ und zwar bei den Hyphomycetes einreihen. Wegen der dunklen Färbung käme die Familie der Dematiaceae in Frage, und wenn man von den Mikrokonidien absieht, könnte man ihn nach dem vorwiegenden Vorkommen einzelliger Chlamydosporen[1]) der Hauptgruppe Amerosporae (Phaeosporae) zuweisen und bei der Gattung Acremoniella Sacc. der Monotosporeae einordnen. Mißt man jedoch den fast immer in auffälliger Zahl vorhandenen zweizelligen Chlamydosporen[1]) als Beginn einer fortgeschrittenen Entwicklungsstufe Bedeutung bei, so stößt man auf die Hauptgruppe Didymosporae (Phaeodidymae) und hier auf die Gattung Dicoccum Corda der Bisporeae. Würde man sich für eine dieser beiden Gattungen entscheiden, so müßte die Umgrenzung derselben erweitert werden, um Pilze, die mehr oder minder die Mitte halten, einstufen zu können. Das Vorkommen der Mikro-

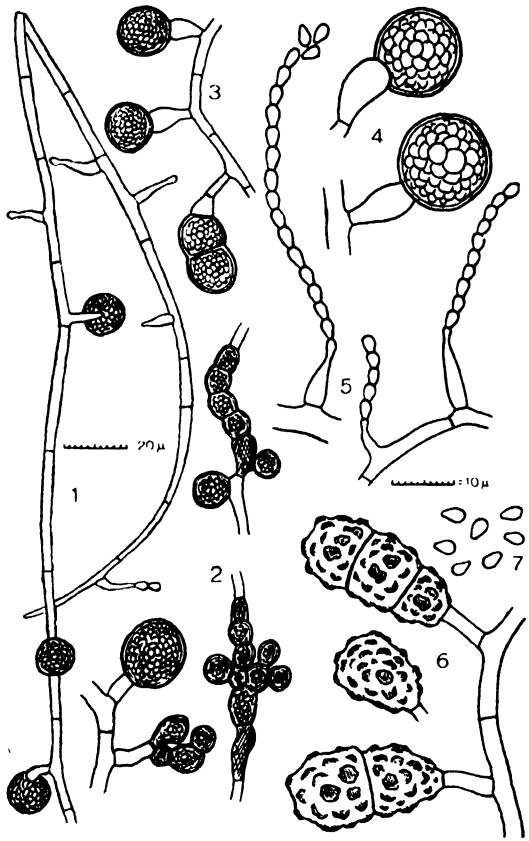
[1]) In der Systematik wird diese Sporenform übrigens auch als Konidie bezeichnet.

konidien ist jedoch ein weiteres wichtiges Merkmal, das aufgenommen werden müßte, ohne daß Klarheit darüber besteht, ob und welchen Arten dieser Gattungen farblose Kettenkonidien zukommen.

Bei den Mucedinaceae, die im allgemeinen Pilze hellerer Färbung umfassen, könnte man etwa noch die Gattung Mycogone Link vergleichen, wenn von der Färbung abgesehen wird, da die Chlamydosporen eine gewisse Ähnlichkeit mit unserem Pilze haben; aber die Konidien sind 0- bis 1-septiert und werden an wirtelig angeordneten Trägern abgeschnürt.

Die dargelegten Gründe lassen es angezeigt erscheinen, den fraglichen Pilz als Vertreter einer neuen Gattung aufzufassen, für die der Name Melanogone vorgeschlagen wird und in der er als Melanogone puccinioides Aufnahme finden mag unter folgender Beschreibung:

Melanogone nov. gen. (Dematiaceарum Hyphomycetum): Mycelium sparsum, depressum, caespitosum, rarius floccosum, primo pallidum, dein griseo-brunneum, infra atrum. Chlamydosporae globosae aut piriformes, episporio crasso, glabro, rarius echinulato praeditae, continuae vel septatae, loculo superiore majore quam inferiore evolutae, singulae, binae, rarius (praesertim in stromate) catenulatae aut nodose acervatae, acrogenae, rarius pleurogenae, in massa e griseo atra, statu sicco pulveracea vel crustacea accumulatae. Praeterea microconidia in catenulas hyalinas disposita occurrunt.



Melanogone puccinioides n. sp.

1. Myzelfaden mit Chlamydosporen und beginnender Mikrokonidienbildung. 2. Anormale Chlamydosporenbildung in Ketten oder Haufen, bei mangelhafter Ernährung auf angesäuertem Wasseragar. 3. Normale Chlamydosporen, deren Trägerende mehr oder minder blasig aufgetrieben erscheint. 4. Dieselben stärker vergrößert. 5. Mikrokonidienketten.

Dicoccum asperum (Corda) Lindau.

6. Chlamydosporen. 7. Mikrokonidien, die sich in geringer Zahl gelegentlich vergesellschaftet finden.

Habitat in ligno putrido radicum et truncorum arborum variarum, in humo plus minusve tabescente, vegetabilibus (foliis, ramis etc. e. gr. Pini, Piceae, Fagi) intermixto frequens in Germania.

Obs. Hic fungus qui chlamydosporis 0- ad 1-septatis medium esse

videtur inter Aeremoniellam Sacc. et Dicoccum Corda, satis differt microconidiis hyalinis, a Mycogone colore nigro, conidiis continuis catenatis etc.

Melanogone puccinioides nov. spec. Mycelium e pallido griseobrunneum primo libenter chlamydosporas format quibus stroma gradatim nigrescit, dein microconidia hyalina: Chlamydosporae ad apices vel ad ramos breves laterales continuos aut 1-septatos, cellula apicali saepe bulbosa praeditos, hypharum fertilium, 2—3 (ad 5) μ crassarum, septatarum formatae, globosae vel piriformes, continuae 13,8 × 12 plerumque 13—15,6 × 11—14 (10—18 × 9—17), rarius (ad 14%) 1-septatae 20,5 × 12 pler. 17—23 × 11—13 (15—32 × 9—17) μ, singulae, interdum intercalares, singulae, binae, aut in stromate expanso catenatae vel nodose-acervatae, e hyalino atrobrunneae, episporio crasso, glabro, rarius spurie ruguloso praeditae, intra dense vacuolares, in massa pulveracea aut crustacea atrae. Deinde microconidia in catenulas plus minusve longas, hyalinas ad ramulos chlamydosporigeros oriuntur, continua ovoideo-piriformia 3.3 × 2 (3—4 × 1,5—2,5) μ, vulga non germinantia.

Habitat in ligno semi-putrido radicis Ulmi, fungo pernicioso Ceratostomella ulmi Buism. necatae, in saeptis ex trabibus junctis constructis lignorum quorundam, in humo silvarum vegetabilibus (foliis e. gr. Pini, Piceae, Fagi etc.) intermixto frequens in Germania.

Bisher ist es nicht gelungen, die Mikrokonidien von Melanogone zum Keimen zu bringen, so daß ihre Bedeutung als Verbreiter des Pilzes nicht feststeht. Der Masse nach treten sie gegenüber den stets vorherrschenden Chlamydosporen sehr in den Hintergrund. Sie sind aber trotz ihrer Zartheit nicht vergänglich, sondern lassen sich auch in 6 Jahre alten Trockenkulturen leicht nachweisen. Auf frischen Nährboden gebracht, keimten nachweislich nur Chlamydosporen aus, die unter den gegebenen Bedingungen also eine mindestens sechsjährige Lebensdauer zeigten.

An Fundorten und Herkünften des Pilzes seien genannt: Morsches Holz unter dem Steinfußboden eines baufälligen Balkons in Berlin; Wurzelholz einer durch Ceratostomella ulmi Buisman, Erregerin der als Ulmensterben bekannten Baumkrankheit, zum Absterben gebrachten Bergulme (Ulmus scabra-montana) aus Aachen (Rheinprovinz); Waldstreu von Buche und Kiefer aus der Umgebung Berlins und Fichte aus dem Hils (Braunschweig). Der Pilz scheint ein echter Bewohner von Waldstreu[1]) und in Zersetzung befindlichen Holzes zu sein. In einem Tastversuch in Apfelfrüchte gebracht, zeigte sich, daß er das lebende Gewebe der Frucht nicht anzugreifen vermochte.

Am nächsten verwandt dürfte Dicoccum sein, dessen bekanntester Vertreter D. asperum (Corda) Lind. (Fig. 6 und 7) auf faulem Holz von Buche, Eiche usw. vorkommt, aber fast durchweg zweizellige, in der Reife stets rauhe Sporen hat.

[1]) Nähere Angaben über das Vorkommen in Waldstreu sowie über die Bedeutung bei der Zersetzung derselben siehe Stapp und Bortels (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 90. 1934. S. 28—66).

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Blanck, E., Handbuch der Bodenlehre. 5. Bd.: Der Boden als oberste Schicht der Erdoberfläche. 483 S., 103 Abb. Berlin (Julius Springer) 1930. Preis brosch. 52 RM., geb. 55 RM.

Auch der 5. Band des Blanckschen Handbuches bietet in Bearbeitung und Bildausstattung allen Benutzern die Gewähr einer schnellen und gründlichen Unterrichtung über die behandelten Spezialfragen. Unter dem Obertitel: Der Boden als oberste Schicht der Erdoberfläche, werden folgende Themen besprochen:

1. Das Bodenprofil (L. Rüger, Heidelberg). — 2. Das Wasser als Bestandteil des obersten Teils der Erdkruste, insbesondere des Bodens und seine Herkunft (A. Kumm, Braunschweig). — 3. Lakustrische Unterwasserböden (Seeablagerungen der nördlichen humiden Breiten (E. Wasmund, Langenargen am Bodensee). — 4. Bodenbeurteilung und Probenahme an Ort und Stelle sowie die hierfür in Frage kommenden Untersuchungsgeräte (F. Giesecke, Göttingen). — 5. Das Landschaftsbild in seiner Abhängigkeit vom Boden (Landschaftsformen) (K. Sapper, Würzburg). — 6. Die Böden Deutschlands (H. Stremme, Danzig-Langfuhr). 7. Der geographische Wert des Bodens (Boden und Kulturentwicklung) (S. Passarge, Hamburg).

Für die Technik der Bodenuntersuchung sei vor allem auf die in diesem Bande gegebene und in solcher Vollständigkeit bisher nicht vorhandene Zusammenfassung der für die Probenahme wichtigen Gesichtspunkte und Apparate hingewiesen.

Ebenso darf die Darstellung des Anschlusses der bodenmorphologisch-genetischen an die geologisch-agronomische Kartierung starkes Interesse beanspruchen.

Ferner führen andere hier behandelte Gebiete, wie z. T. schon die Untertitel erkennen lassen, über rein bodenkundliche Belange hinaus auf allgemeinere Gesichtspunkte, so daß nicht nur den engeren Fachgenossen, sondern jedem naturwissenschaftlich Gebildeten das Studium dieses Bandes besonders empfohlen werden kann. E. Pfeil (Berlin-Dahlem).

Koller, Raphael, Das Rattenbuch. Ein Sammelbericht über die wirtschaftliche und hygienische Bedeutung der Rattenplage und über die Bekämpfung der Ratten. 172 S., mit 10 Abb. Hannover (M. & H. Schaper) 1933. Brosch. 9,00 RM.

Die kaum noch zu übersehende Fülle der Fachliteratur verlangt von Zeit zu Zeit dringend nach zusammenfassenden Darstellungen aller zu bestimmten Fragenkomplexen vorliegenden Kenntnisse und praktischen Erfahrungen. Eine solche Zusammenfassung ist dem Verf. bezüglich der Rattenbekämpfung glänzend gelungen. Die Richtung des Buches ergibt sich schon aus dem Untertitel. Nach einer Einleitung, die die wirtschaftliche Bedeutung der Ratten unter Angabe der in der Literatur angegebenen Schadziffern berücksichtigt, werden in einzelnen Kapiteln die Geschichte der Rattenplagen unter Zitierung ältester Nachweise, die Zoologie der Ratten und Rattenarten (deutsche und fremdsprachige Bezeichnungen, Merkmale, Auftreten, Wanderungen und Biologie), die Ratte als Krankheitsüberträger (unter An-

führung aller für eine Übertragung nur irgendwie in Frage kommenden Krankheiten) und die Bekämpfung der Ratten unter eingehender Berücksichtigung und Zitierung der wichtigen Literatur behandelt. Insbesondere das letzte über 100 Seiten umfassende Kapitel bringt eine sehr gute Zusammenstellung aller für die Rattenbekämpfung in Frage kommenden Verfahren, Mittel und Organisationsmaßnahmen, wie die als Rattenfänger praktisch benutzten Tiere, die zum Fang verwendeten Fallen und Fangvorrichtungen, die mannigfachen festen, flüssigen und gasförmigen Rattenbekämpfungsmittel, die Bakterienpräparate sowie auch die in den einzelnen Staaten zur Bekämpfung der Ratten erlassenen gesetzlichen Bestimmungen. Jedem Kapitel ist ein die wichtigsten Arbeiten berücksichtigendes Literaturverzeichnis angehängt. Das Buch kann allen, die sich mit Ratten und Rattenbekämpfung beschäftigen, bestens empfohlen werden.

Trappmann (Berlin-Dahlem).

Küster, E., Hundert Jahre Tradescantia. 36 S. Jena (Verlag G. Fischer) 1933. Preis brosch. 2.— RM.

Verf. zeigt in dieser sehr lehrreichen Schrift, wieviel die botanische, insbesondere die zytologische Forschung der guten alten Tradescantia, diesem jedem Botaniker bekannten Versuchsobjekte bis in die allerjüngste Zeit verdankt. Die Schrift ist vorzüglich geeignet, bei der Einführung in die Zellenlehre als Hilfsbuch zu dienen, und auch der Fachmann wird daraus Anregung schöpfen und sich mit Nutzen der zahlreichen Literaturhinweise bedienen, die darin enthalten sind. E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virus-Untersuchungen.

Kuschnarew, M. A., Über gewisse Regelmäßigkeiten der individuellen Variabilität von Bac. mycoides und Bac. mesentericus. (Microbiology. Vol. 2. No. 2. p. 118–127.) [Russisch.]

Aus dem Boden isolierte Stämme von Bac. mycoides und Bac. mesentericus wurden dem Einfluß niedriger Temperatur, von — 3° bis — 12°, unterworfen, und zwar die Sporen dieser Mikroorganismen. Versuchsdauer von 24 Stunden bis 2 Monate. Bei diesen Bedingungen gewonnene neue Rassen waren zum Teil Modifikationen, die bei weiterer Überimpfung zu den Anfangsformen zurückkehren, zum Teil waren es fixierte Saltanten. Bei längerer Kältewirkung (über 3 Tage) gewonnene Saltanten von B. mycoides unterschieden sich stark von den Ausgangskulturen, während sie untereinander nahestehend waren. Im allgemeinen besaßen diese Varianten folgende Eigenschaften: glatte, durchsichtige, oder rauhe, weiße Kolonien mit schleimigen Rändern; Fäden und Zellenketten fehlen, gehemmte oder völlig fehlende Sporenbildung, zierliche, dünne, kurze Stäbchen. Gelatineverflüssigung gehemmt, Abnahme der Widerstandsfähigkeit gegen hohe und niedrige Temperaturen. Temperatur — 3° während 10 bis 12 Stunden und 100° während einer halben Minute töten die Zellen. Bac. mesentericus lieferte unter Kältewirkung gleichfalls Modifikationen und Saltanten. Die letzteren verloren zum Teil oder völlig die Eigenschaften, Gelatine zu verflüssigen, Haut auf flüssigem Nährboden und Sporen zu bilden; auf festen Nährböden gaben sie glatte Kulturen und wiesen Abnahme der Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen auf.

Einige Varianten von Bac. mycoides und Bac. mesentericus waren ihren morphologischen und biochemischen Eigenschaften nach identisch. Diese Erscheinung, „Konvergenz" der Varianten, könnte von genetischen Beziehungen zwischen diesen Bakterien abhängig sein. Alle Varianten wiesen völligen oder teilweisen Verlust der für ihre Ausgangskulturen charakteristischen Eigenschaften auf.

A. Imšenecki (Leningrad).

Braun, J., Variabilitätsstudien bei Streptokokken, Pneumokokken und Enterokokken. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 519 - 533.)

Es handelt sich um eine Weiterführung der gemeinsam mit Beck begonnenen Studien über die Umwandlung von Streptokokkentypen in Enterokokken mittels verschiedener Medien. Es wurde beobachtet, daß auch die an sich seltene Spontanvariabilität der Streptokokken und Pneumokokken zuweilen zu Formen führte, die mit den Enterokokken übereinstimmten. — Die Züchtung in sauren Nährböden verursachte bei den hämolytischen und vergrünenden Streptokokken und beim Strept. viridans eine Verminderung der Galleresistenz. Anderseits verlor durch Einwirkung von Galle ein Teil der hämolytischen Streptokokken vorübergehend das Hämolysevermögen, ein Teil der vergrünenden Mundhöhlenstreptokokken die Fähigkeit der Vergrünung auf der Blutplatte.

Rodenkirchen (Duisburg).

Hirsch, J. und **Müller, A. W.**, Zur Bedeutung des Peptons als Nährsubstrat aerober Bakterien. Die Verwertung des Peptons durch Staphylococcus aureus. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 443—494.)

Die Ausnutzbarkeit des Peptons bei der Keimvermehrung ist nicht auf seine stoffliche Verwertung als Stickstoffquelle für den Aufbau von Zelleiweiß beschränkt. Nicht minder wichtig ist bei Abwesenheit anderer energetisch ausnutzbarer Substanzen die Funktion des Peptons als Quelle der Energie, die für die vitalen Leistungen der Mikroorganismen erforderlich ist.

Die Aufspaltung des Peptons in Peptide bzw. Aminosäure verläuft auf dem Wege der Hydrolyse und wird durch die entsprechenden freien oder an den Zelleib gebundenen Fermente (Proteasen, Tryptasen, Peptidasen) katalysiert. Eine wichtige Umsetzung des Peptons führt zur Abspaltung von Ammoniak. Sie erfolgt durch oxydative Desaminierung der freien Aminogruppen, da sie nur in Gegenwart von Luftsauerstoff stattfindet und niemals mehr Ammoniak entsteht als durch Abspaltung der jeweils dargebotenen Aminogruppen entwickelt werden kann. Bei vielen Mikroben überschreitet jedoch der Umfang der Ammoniakproduktion die Menge der ursprünglich vorhandenen Aminogruppen. Es handelt sich dann um Mikroben, die, im Gegensatz zum Staphylococcus aureus und zur Sarcina lutea, imstande sind, durch hydrolytische Spaltung von peptidartigen Bindungen neue Aminogruppen aus Pepton freizulegen (z. B. B. subtilis). Trotz ihrer energetischen Ausnutzbarkeit genügen die Aminosäuren den stofflichen Bedurfnissen des Staphylococcus aureus nicht. Während z. B. Hefen aus einfachen Ammoniumsalzen Eiweiß zu synthetisieren vermögen und Choleravibrionen noch mit einfachen Aminosäuren zum Protoplasmaaufbau auskommen, benötigen die pyogenen Staphylokokken höhere Komplexe wie Pepton. Die Bedeutung der Peptone für die Bakterienproduktion ist damit noch nicht erschöpft. Bestimmte Peptonsorten enthalten Stoffe, die die initiale Vermehrung beschleunigen. So beruht die Bedeutung der sog. Extraktivstoffe des Muskelfleisches (Liebigs Fleischextrakt, Maggis gekörnte Fleischbrühe) weniger auf dem Gehalt an stofflich oder energetisch verwertbaren Substanzen als auf dem Gehalt an solchen Reizstoffen. Von größter Bedeutung für die Keimvermehrung ist schließlich noch die Sauerstoffversorgung. Unter anaeroben Bedingungen gehen die pyogenen Staphylokokken auf Pepton als einziger Stoff- und Energiequelle nicht an, sondern erst, wenn außerdem Glykose zugefügt wird. Somit ist also die stoffliche Ver-

wertung des Peptons als Stickstoffquelle anoxybiotisch möglich, die energetische Ausnutzung aber nur bei Gegenwart von Sauerstoff. Übrigens ist die Sauerstoffversorgung bei der im Laboratorium üblichen Züchtung in unbelüfteten flüssigen Nährmedien für eine intensive und maximale Vermehrung aerober Mikroben völlig unzureichend. Die Diffusion des Sauerstoffes in wässerigen Lösungen verläuft viel zu langsam, um — selbst schon bei Schichthöhen von wenigen Millimetern — den zunehmenden (physiologischen) Sauerstoffbedarf decken zu können.

Rodenkirchen (Duisburg).

Svartz, A., Über das Vorkommen von klostridienbildenden Bakterien, besonders Clostridium butyricum jodophilum, im Darm. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 12. 1933. S. 1843—1844.)

Verf. unterscheidet 2 einander nahestehende Haupttypen von buttersäurebildenden Bakterien, die als Haupteigenschaft die Neigung haben, unter gewissen Verhältnissen jodophile Substanzen einzulagern und Klostridienform anzunehmen. Der eine Typ entspricht dem im Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 125. 1932. S. 115, eingehend beschriebenen Clostrid. butyr. jodophilum und der andere Typ gleicht in den wichtigsten Beziehungen dem ursprünglichen Clostridium pasteurianum Winogradsky. Das Clostrid. butyr. jodoph. kommt am häufigsten im Darmkanal des Menschen vor, das Clostr. past. Winogr. vorwiegend in der Erde. Unterschiede zwischen beiden bestehen, außer in der Morphologie, in der verschieden starken Fähigkeit zu Stärkeeinlagerung und im Vergärungsvermögen von Kohlehydraten, vor allem bezüglich der Gärungsprodukte. So bildet Clostrid. butyr. jodoph. Buttersäure, aber weder Azeton noch Butylalkohol, der Typus Winogradsky dagegen sowohl Azeton als auch Butylalkohol. Auch agglutinatorisch ist Trennung möglich. Die Bezeichnung Bac. amylobacter sollte nicht mehr gebraucht werden, da hierunter nicht nur die verschiedenen buttersäuregärenden klostridienbildenden Bakterien verstanden wurden, sondern auch andere Typen wie der Bac. tertius Henry, der weder obligat anaerob noch zu Stärkeeinlagerung oder Klostridienbildung fähig ist.

Rodenkirchen (Duisburg).

Schaede, Über das Wachstum des sogenannten Bacterium typhi flavum in Blut und Galle. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 130. 1933. S. 21—23.)

Die vom Verf. gezüchteten Gelbkeime starben in Rindergalle bei 37° rasch ab, während sie bei 22° gediehen. Sie verhielten sich also ganz anders als Typhusbakterien, die nach den Untersuchungen mehrerer Autoren als Variante der Gelbkeime auftreten. Jedenfalls spricht das Verhalten in Galle bei 22° mehr für eine saprophytische Natur. In Blut war übrigens das Wachstum auch bei 37° gut, was gelegentliche Pathogenität erklären könnte.

Rodenkirchen (Duisburg).

Sobernheim, G., Die Wandlungsfähigkeit der Bakterien mit besonderer Berücksichtigung des Bact. typhi flavum. (Die Med. Welt. Jahrg. 59. 1933. S. 1668—1669.)

Nach den Ergebnissen Verf.s kann nicht mehr bezweifelt werden, daß Umwandlungen in der Coli-Typhus-Paratyphusgruppe nicht selten vorkommen. Dresels Angaben über die Umwandlung des Bact. typhi flavum in typische Typhusbakterien werden bestätigt. Verf. erzielte sie nach 42—96 Passagen. Einer der Gelbstämme veränderte sich nach etwa 3 Monaten von neuem und spaltete Paratyphus B (Schottmüller)-

Bakterien ab. Auch ein Stamm von Bact. coli commune wurde durch systematische Fortzüchtung auf peptonfreiem Agar und in Galle nach kurzer Zeit zu einem Paratyphus-Schottmüller-Bakterium. Er spaltete nach weiteren Passagen einen Gelbstamm ab. Bei einem frisch isolierten Typhusstamme wurde die Abspaltung von gelben Kolonien durch Kultur auf Pflanzen und Pflanzennährböden erreicht.

Rodenkirchen (Duisburg).

den Dooren de Jong, L. E., Über Micrococcus Eykmannii n. sp., ein Bakterium, welches für sein Wachstum vitaminartige Stoffe braucht. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 1. 1934. S. 1.)

Micrococcus Eykmanii n. spec. fand Verf. zufällig als Verunreinigung. Das Bakterium zeichnete sich durch sehr kümmerliches Wachstum auf Pepton aus, das sich aber steigerte, wenn gleichzeitig andere Bakterien, Hefen oder Pilze zugegen waren; nur Microc. albus und roseus wurden als unwirksam gefunden. Es wurde kein anderes Bakterium mit der gleichen Eigenschaft gefunden.

Die wachstumsfördernde Wirkung zeigten auch die Filtrate wirksamer Stämme, ferner Pflanzen- und Fleischextrakte und Harn. Versuche mit Avena zeigten, daß das wirksame Prinzip nicht mit den bekannten Wuchsstoffen (Auxinen) identisch ist. Es ist allerdings auch in sehr geringer Menge wirksam, noch in einer Verdünnung von 1 auf 5 Millionen Substrat.

Sehr beachtenswert ist, daß die meisten Peptone die Erscheinung nicht geben, sondern nur das vom Verf. zufällig benutzte Pepton Poulenc pulverisée.

Rippel (Göttingen).

Hettche, H. O., Untersuchungen über die Natur der bactericiden und hämolytischen Bestandteile der Pyocyaneuslipoide. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 12. 1933. S. 1804—1805.)

Das Lipoid des Bact. pyocyaneus besteht zu über 90% aus einem Neutralfett, der Rest aus einer Säure. Allein die Salze dieser Säure, die flüssig ist und von intensiv ranzigem Geruch, haben bakterizide (gegenüber grampositiven Mikroorganismen) und hämolytische Eigenschaften. In ihrer bakteriziden Wirkung entspricht die Pyocyaneussäure den höheren gesättigten Fettsäuren. Deren Bakterizidie ist freilich gering gegenüber derjenigen der Salze der ungesättigten höheren Fettsäuren, deren Wirkung mit der Anzahl der Doppelverbindungen parallel läuft.

Rodenkirchen (Duisburg).

Rippel, A. und Witter, P., Untersuchungen an Actinomyceten. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 24—30.)

An 5 Stämmen vom langfädigen, aeroben Typ konnte durch Änderung der Ernährungs- und sonstigen Bedingungen keine Variation erzielt werden, auch nicht durch Röntgen- und Ultraviolettbestrahlung. Spontan zeigte einmal eine Kolonie die von Lieske beschriebenen sporenlosen Sektoren; die Abimpfung wuchs wieder normal.

Involutionsformen finden sich in 4—5 Monate alten Flüssigkeitskulturen; sie sind stark verfettet. Lithium löst keine Reizformen aus. Auch im normalen Myzel läßt sich Fett nachweisen; die Menge beträgt 0,38% der Trockensubstanz. Volutin ist in jungem Myzel in reichlicher Menge nach-

zuweisen; in älterem Myzel wird es von Fett abgelöst. Chitin ist nicht vorhanden, wie mikroskopische und makrochemische Untersuchungen zeigten.

Ein Zellkern läßt sich nicht nachweisen; die Feulgen-Reaktion zeigt diffuse Färbung wie bei den Bakterien. Was bisher für Zellkerne angesprochen wurde, scheinen Fettkügelchen zu sein.

Rippel (Göttingen).

Imšenecki, A., Verhalten lebendiger und toter Hefezellen gegenüber Farblösungen. (Mikrobiologie. Bd. 2. Nr. 2. 1933. S. 162—173.) [Russisch.]

Junge Zellen von Saccharomyces cerevisiae werden von Methylenblau 1 : 10 000 nicht gefärbt. Durch Kochen oder Ammoniakdämpfe getötete Zellen färben sich tiefblau. Sich färbende Zellen aus alten Kulturen besitzen, wie unmittelbare Beobachtung im hängenden Tropfen zeigt, keine Fähigkeit zur Sprossung.

Da Methylenblau toxisch wirkt, ist die Zahl der gefärbten Zellen höher als die Zahl der toten Zellen der Kultur, indem schwächere Zellen unter der Farbwirkung zugrunde gehen. Mit Zunahme der Farbkonzentration steigt die Zahl der gefärbten Zellen. Auf die Zahl der gefärbten Zellen hat der Nährboden, in dem sich die Zellen vor der Färbung befanden, Einfluß. Sogar nach kurzem Aufenthalt im Wasser, z. B. steigt die Zahl der gefärbten Zellen bedeutend, während Würze mit 4% Gelatinezusatz Abnahme der gefärbten Zellen bewirkt. Hinzufügen von KOH in verschiedenen Konzentrationen hat Zunahme der gefärbten Zellen zur Folge, indem die Zellen bei diesen Bedingungen getötet werden. Entfärbung der gefärbten Zellen tritt nur in saurem Substrat ein. Um differenzierte Färbung toter und lebendiger Hefezellen zu erreichen, wurden Farben in verschiedenen Kombinationen angewandt. Es erwies sich, daß alle angewandten Farben nur totes Zytoplasma färben. In bezug der Differenzialfärbung erwies sich am günstigsten kombinierte Färbung mit Methylenblau und Neutralrot. Diese Farbmischung färbt tote Zellen blau, während in lebendigen Zellen der Inhalt der Vakuolen, Metachromatin und Plasmakörner rot gefärbt werden.

Da die sog. vitalen Farben eine gewisse Anzahl von Zellen töten, ist die Bezeichnung „Vitalfärbung" im gegebenen Fall zu vermeiden und durch „supravital" zu ersetzen. A. Imšenecki (Leningrad).

Melin, E., Zur Frage des Antagonismus zwischen frei lebenden Mikroorganismen. Untersuchungen an Holzschliff. [Vorläufige Mitteilung.] (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 4. 1933. S. 509—513.)

Holzschliff wird oft durch Dematiaceen verfärbt (größere oder kleinere, graue oder graublaue Flecken). Bisweilen kommen jedoch solche Mikroorganismen zahlreich vor, ohne daß Verfärbung eintritt. Verf. konnte an Reinkulturen nachweisen, daß Torulopsidaceen das Wachstum von Dematiaceen hemmen, so daß keine Farbstoffbildung eintritt. Folgende Arten wurden isoliert: Cadophora fastigiata und Trichosporium heteromorphum von Dematiaceen und Geotrichum candidum, Candida-, Mycotorula-, Torulopsis-Arten von Torulopsidaceen. Bakterien übten in der Regel keinen Einfluß aus, Bierhefe einen günstigen.

Die von den Torulopsidaceen abgeschiedenen hemmenden Substanzen sind hitzelabil und werden durch Bakterienfilter zurückgehalten.

Rippel (Göttingen).

Imšenecki, A. und Kriß, A., Beiträge zur Kenntnis der Fungi imperfecti. Ein neuer Pilz Mastigomyces Philippovi (nov. gen. nov. sp.), gefunden auf Miro-

balanafrüchten (Terminalia chebula). (Compt. Rend. l'Acad. Sc. l'URSS. No. 7. 1933. p. 111—116.) [Russisch.]

Bei Untersuchung der Mikroflora pflanzlicher Gerbstoffe wurde von den Früchten der Terminalia chebula ein Pilz mit eigenartiger Morphologie isoliert. Die Entwicklung des Pilzes wurde im hängenden Tropfen, in Bierwürze, beobachtet.

In Kulturen aus einer Zelle in Würze, auf Würze-Agar und Mohrrüben bilden sich typische, ovale, hefeähnliche Zellen des Pilzes von 1,6—2,5 μ $\times$ 2,3—4,5 μ, von denen allmählich sich verjüngende Fortsätze (1—4, häufiger 1—2) ausgehen, die die Länge von 25—30 μ erreichen. Neben diesen Zellen enthalten die Kulturen hefeähnliche, sprossende Zellen ohne Fortsätze. Bei Beobachtung des Pilzes im hängenden Tropfen ließ sich folgender Verlauf seiner Entwicklung feststellen. Auf der Mutterzelle entstehende Sprosse verlängern sich allmählich und verwandeln sich in myzelähnliche, allmählich sich verjüngende Fäden, die zuweilen flache Windungen aufweisen. Weder in aeroben, noch in anaeroben Kulturen des Pilzes entwickelten sich echte Myzelien oder unseptierte, der Pseudomonilia (Geiger) eigene, lange, dünne Fäden. Die Mutterzelle und der Fortsatz enthalten je einen Kern. Die Vakuolen enthalten viel Metachromatin, das auch ohne Vitalfärbung auffällt.

Auf Würze-Agar bildet sich ein grauweißer, glatter Belag mit fein festonierten Rändern. Vergrößert bestehen die Ränder aus sich verzweigenden Härchen.

In Bierwürze Ringbildung und zarte Haut. Sporenbildung fehlt. Der Pilz vergärt nicht Mono- und Disaccharide verflüssigt keine Gelatine, zersetzt nicht Stärke, assimiliert gut Kohlehydrate und organische Säuren. Die Kulturen in Bierwürze besitzen Fruchtgeruch. Die Morphologie des Pilzes ist eigenartig und gibt keinen Anlaß, denselben zu den Mycatorula oder Pseudomonilia zu zählen. Die neue Gattung bildet eine Übergangsform zwischen beiden erwähnten Gattungen. Die Entwicklungsgeschichte von Mastig. Philippovi ist gleichsam unterbrochen und die Unfähigkeit zur echten Myzelbildung erblich fixiert.

A. Imšenecki (Leningrad).

Georgi, C. E., and Wilson, P. W., The influence of the tension of oxygen on the respiration of Rhizobia. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 4. 1933. 543—564.)

Die im Respirationsapparat (Typ Warburg für kurzfristige, Typ Novy-Soule für langfristige Versuche) vorgenommenen Versuche zeigten eine bemerkenswerte Verschiedenheit von Knöllchenbakterienstämmen. Bei Rhizobium trifolii, leguminosarum, meliloti steigt die aus Glukose gebildete Kohlensäure mit steigendem Sauerstoffdruck. 60—80% des Glukose-Kohlenstoffs erschienen als CO_2, der Rest steckt in den gummiartigen Stoffen des Bakterienschleimes. Der Atmungsquotient (CO_2/O_2) liegt nahezu bei 1. Bei Rh. japonicum dagegen, bei dem auch O_2-Verbrauch und CO_2-Produktion viel geringer waren als bei den übrigen, steigt der Glukoseverbrauch mit sinkendem O_2-Druck. Gleichzeitig scheint hier der Atmungsquotient etwas zu steigen.

Als Atmungsprodukt wird nur Kohlensäure gebildet. Noch bei geringer Sauerstoffspannung (5% und weniger) war die Atmung groß, was mit Zychas Feststellungen des relativ geringen Sauerstoffbedürfnisses der Knöllchenbakterien übereinstimmt.

Rippel (Göttingen).

Rippel, K., Untersuchungen über die Abhängigkeit der Sporenkeimung vom Wassergehalt der Luft bei Cladosporium fulvum Cooke und anderen Pilzen. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 4. 1933. S. 530—542.)

Entscheidend für das Auskeimen von Pilzsporen ist allein die relative, nicht die absolute Luftfeuchtigkeit, wie an Cladosporium fulvum und herbarum, Botrytis cinerea und spec., Penicillium glaucum gezeigt werden konnte. Cl. fulvum ist sehr feuchtigkeitsliebend; als praktische Bekämpfungsmaßnahme ergibt sich daher Lüften der Gewächshäuser. Rippel (Göttingen).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Kelly, C. D., Controlling ropy milk outbreaks. (N. Y. State Agr. Exp. Stat. Bull. 631. 1933.)

Wiederholte Ausbrüche von schleimiger Milch in einer neuen Molkerei mit Dauerpasteurisierungs-Einrichtung veranlaßten den Verf. zu der vorliegenden Untersuchung. Als Erreger wurde Aerobacter aerogenes festgestellt. Wenngleich diese Keime zwar an verschiedenen Stellen der Molkerei beobachtet werden konnten sowie in 10% aller angelieferten Milch, so waren sie doch niemals in der frisch pasteurisierten Milch zu finden; eine Neuinfektion derselben trat jedoch mitunter beim Passieren der Kühler und Flaschenabfüllmaschinen auf. Die gereinigten Flaschen und Flaschenverschlüsse waren frei von diesen Organismen. Bezüglich Verteilung der Schleimbildner in der Milch selbst wurde eine Anhäufung in den oberen Schichten, insbesondere der Rahmschicht beobachtet (5200—40 000 pro ccm). Abhilfe wurde folgendermaßen gefunden: 1. durfte die von den Verbrauchern zurückgegebene Milch nicht mehr in die Molkerei zurück; 2. wurde die Rohmilch bzw. der Rahm von der Umgebung des Pasteurisierapparates bzw. von den Röhren und Apparaten, die die Milch nach Pasteurisierung durchlaufen mußte, peinlich ferngehalten; 3. wurde die ganze Apparatur gründlich gereinigt und desinfiziert (mit Chlorlösung, die 100 Teile pro Million wirksames Chlor enthält). Durch gründliche Kannenwäsche und -Sterilisation wurde des weiteren ein Verschleppen der Schleimbildner zu den Lieferanten hinaus verhindert. Karl J. Demeter (Weihenstephan).

Hammer, B. W., and **Olsen, H. O.,** Studies on a Color Defect in Butter. (Iowa State Coll. Journ. of Sci. Vol. 7. 1933. S. 487—491.)

Verff. beobachteten in 2 Fällen, daß Butter an der Oberfläche rosafarbene Flecken aufwies. Die bakteriologische Untersuchung ergab nichts anormales, weder was die Zahl noch die Art der Mikroorganismen betraf. Wenn aber ungefärbte Teile dieser Butterproben der Einwirkung von Schwefeldioxyd ausgesetzt wurden, trat rasch rosarote Färbung auf; eine Untersuchung des zur Aufbewahrung der Butter benutzten Kühlschrankes ergab, daß er an einer Stelle undicht war und Schwefeldioxyd austreten ließ. Die gleiche Färbung ließ sich übrigens auch mit Chlor-, Brom-, Salzsäure- und schwefligen Säuredämpfen, des weiteren mit Aufträufeln der entsprechenden konzentrierten Säuren (auch Milchsäure!) erzielen. Was den evtl. Einfluß der Butterfarbe auf diese Erscheinung betrifft, so wurde folgendes beobachtet: Annatto-Farbe ergab keine Reaktion mit den erwähnten Reagentien, dagegen

war dies der Fall mit gelb AB (Benzen-azo-B-Naphthylamin). Von 66 herausgegriffenen Handelsproben zeigte die Hälfte Rosafärbung, wenn sie mit schwefliger Säure behandelt wurden.

Karl J. Demeter (Weihenstephan).

Yale, K. W., The Escherichia-Aerobacter Group of Bacteria in Dairy Products. (Journ. Dairy Sci. Vol. 16. 1933. S. 481—494.)

Die Identifizierung der untersuchten 204 Vertreter der Escherichia-Aerobacter-Gruppe wurde nach Bergey (1930) vorgenommen. Als Anreicherungsmedium diente Gentianaviolett-Laktose-Pepton-Gallewasser nach Keßler und Swenarton, es wurden aber auch von der fraglichen Milch direkte Ausstriche auf Levinés Eosin-Methylenblau-Agar angelegt. Verf. will eine gute Unterscheidungsmöglichkeit zwischen Escherichia und Aerobacter schon lediglich auf Grund des Koloniebildes auf dem Eosin-Methylenblau-Agar bemerkt haben. Zum Zwecke der Diagnose wurden folgende Reaktionen durchgeführt: Methylrotprobe, Voges-Proskauerprobe (nach Werkman), Wachstum auf Kosers Zitratagar, Indolprobe (nach Gorê), Gelatineverflüssigung, Nitratreduktion, Beweglichkeit, Verhalten in Lackmusmilch und beim Kohlehydratabbau.

Die gefundenen Escherichia- und Aerobacter-Arten verteilten sich wie folgt. An Escherichiaarten wurden gefunden: E. coli, E. pseudocoloides, E. communior, E. paragrünthali, E. vesiculiformans, E. formica, E. enterica, E. anaerogenes, E. grünthali und E. neapolitana, an Aerobacterarten: A. aerogenes, A. cloacae und A. oxytocum.

Der häufigste Vertreter in Rohmilch war E. coli, in pasteurisierter Milch E. pseudocoloides, in Rahmeis A. cloacae, in Rohrahm, fadenziehender Milch und Rahm sowie in fehlerhafter Butter A. aerogenes. 80 von den insgesamt 204 isolierten Stämmen konnten nach Bergeys Schema nicht ohne weiteres identifiziert werden; ein Drittel wurde „Zwischenformen" zugeteilt, die anderen mußten als atypische Formen zur einen oder anderen Art gestellt werden.

Karl J. Demeter (Weihenstephan).

Castelli, T., Su alcune Hansenule della fermantazione panaria. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 4. 1933. S. 514—529.)

In zum Brotbacken im Haushalt verwendeten Sauerteig werden zahlreiche Hansenula-Arten gefunden. Verf. beschreibt 2 neue in diesem Substrat gefundene Arten: H. panis n. spec. und H. nivea n. spec.

Rippel (Göttingen).

Schuster, K. F., Über hoch- und niedervergärende Hefe-rassen. (Tagesztg. f. Brauerei. Bd. 31. 1933. S. 250.)

Im Brauereibetrieb kommt es nicht selten vor, daß sich die gewohnte, charakteristische Vergärungsart einer Hefe plötzlich vollkommen verändert. Diese Umwandlung der Hefe kann vorübergehender oder dauernder Natur sein. Im ersten Fall können folgende Anlässe vorliegen: kleine Änderungen in der Zusammensetzung der Würze, Änderungen im Sudverfahren, Art und Zeitdauer der Aufbewahrung der Hefe, Änderungen in der Konzentration der Würze. Im zweiten Fall handelt es sich oft um ausgesprochene Degenerationserscheinungen als Folge von Mangel an Nährstoffen, Übersättigung mit Eiweiß, oder aber es kommt als Folge nicht leicht erklärbarer Umstände

innerhalb einer bestimmten Heferasse ein anderer Zelltypus zur Vormachtstellung gegenüber den anderen Artgenossen. Es ist ja bekannt, daß bei der Isolierung mehrerer Zellen aus einem Hefestamm diese durchaus nicht immer den gleichen Vergärungsgrad aufweisen. Heuß (Berlin).

Koch, R., Hefewachstum bei Sauerstoffmangel. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 169—172.)

Die Sauerstoffwirkung gegenüber Hefe kann man mit dem Einfluß der Temperatur in Parallele setzen. Erhöhte Gärtemperaturen beschleunigen die Vermehrung und den gesamten Zellstoffwechsel in ähnlicher Weise, wie es bei der Lüftung des Gärgutes geschieht. Die neu entstehende junge Zellgeneration ist aber bedeutend weniger gärkräftig als die alte, ausgereifte, die forcierte Vermehrung führt also zu gärschwachen Zellen. Dementsprechend kann man die Gärkraft durch Herabsetzen von Lüftung und Temperatur stärken, weil man mit beiden Maßnahmen der Zelle die notwendige Zeit verschafft, die sie braucht, um sich aus der Nährlösung so zu sättigen, daß sie lebenskräftig wird. Zu Beginn der Gärung kann man die Zellvermehrung durch leichte Temperaturerhöhung und Lüftung fördern, später bringt das Lüften keinen Vorteil mehr. Die Gärungskohlensäure vertreibt die Luft weitgehend aus dem Bier, der damit verbundene Sauerstoffmangel hindert zu rasche Vermehrung der Hefe zugunsten der Gärleistung. Mit dem Abschluß der Luft darf man aber auf keinen Fall ins Extrem verfallen. Verf. gelang der interessante Nachweis, daß die Hefe in sauerstoffreiem Medium sehr bald vermehrungsunfähig wird. Der Sauerstoff der Luft ist ein für die normale Hefeentwicklung unentbehrlicher Faktor. Von einer Schädlichkeit dieses Elements für die Hefe kann also keinesfalls gesprochen werden, wie dies von anderer Seite schon geschehen ist. Der Sauerstoff in richtig dosierter Menge ist vielmehr zur Aufrechterhaltung normaler Lebens- und Entwicklungsfunktionen nicht nur unschädlich, sondern notwendig.
Heuß (Berlin).

Francke, O., Geschichtliches zur biologischen Säuerung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 77—78.)

Verf. zählt eine Reihe älterer Patente und Literaturstellen auf, die sich mit der biologischen Säuerung, besonders durch Bacillus Delbrücki befassen, und die auch heute wieder mehr Interesse in Brauerkreisen findet. Bei ihrer Anwendung ergeben sich folgende technologischen Möglichkeiten: Verbesserung von Wohlgeschmack, Haltbarkeit, Eiweißstabilität, Vergärung, Farbe, Hopfenaroma, Klärung, ferner Ersatz für die Entkarbonisierung und besonders Ersparnis des E.K.-Filters, schnelleres Reifen des Bieres und damit Abkürzung der Lagerzeit. Heuß (Berlin).

Janensch, J., Biologische Mitteilungen. Beiträge zur Anstellhefenfrage. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 237—239.)

Die Kontrolle der Anstellhefe, namentlich von anderen Brauereien bezogener, ist sehr wichtig. Eine gut ausgebaute Hefenanalyse umfaßt die Tröpfchenkultur mit sterilem Wasser bei großer Aussaat. In ihr sollen auf Kosten der Stoffwechselprodukte der selbst darin nicht wachsenden Kulturhefe andere Organismen zum Wachstum gebracht werden. Die Tröpfchenkultur mit steriler Würze bei geringer Aussaat unterrichtet über die Lebensenergie der Hefe und das Vorhandensein gärbeständiger Infektionskeime,

die im Konkurrenzkampf mit der Kulturhefe nicht unterliegen. Das Vaselineeinschlußpräparat mit kleistertrübem Bier dient zum besonderen Nachweis von Stäbchen und Bakterien, alle Präparate können nach 48stündiger Bebrütung bei 25° C durchgesehen werden, man kann damit in kürzester Zeit auch geringste Spuren von Verunreinigungen finden. Zur allgemeinen Orientierung bedient man sich des gewöhnlichen Klatschpräparates.

Heuß (Berlin).

Emslander, F., Die Wasserstoffionenkonzentration und die Dielektrizitätskonstante beim Bier und bei dessen Bereitung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 89—95, 102—104, 108—112 u. 119—120.)

Am gefürchtetsten und verbreitetsten ist die Erkrankung des Bieres durch Pediococcus cerevisiae, dessen Lebensfunktion wie bei allen Mikroorganismen stark von einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration abhängig ist. Die Biersarzina liebt einen mehr neutralen Nährboden, das beste Vorbeugungsmittel dagegen ist ein höherer aktueller Säuregrad. Auch Biere mit hohem Eiweißgehalt sind gegen Sarzina besonders anfällig, sie kommt trotz der heute sorgfältigst gehandhabten Reinlichkeitspflege in der Brauerei auf, während sie vor 50 Jahren trotz der damals noch viel primitiveren Verhältnisse so gut wie unbekannt war. Nach Ansicht des Verf.s liegt dies an den gegenüber jenen Zeiten veränderten Verhältnissen bei der Malzbereitung, beim Maischen und beim Hopfenkochen. Vielfach fehlt es schon an der Auflösung der Malze, woraus Verzuckerungsschwierigkeiten entstehen. Das mehr und mehr verschwindende Dreimaischeverfahren führte zu reichlicher Maltosebildung, dadurch wurde die Wasserstoffionenkonzentration erhöht, die wiederum zu stärkerer Ausscheidung der Eiweißkörper führte. Der erhöhte Gehalt an Zucker und an Säure, der verringerte Gehalt an Eiweiß schufen aber ein für das Aufkommen von Sarzina ungünstiges Milieu. Bei der verkürzten Mälzungsweise und den reduzierten Maischverfahren entsteht weniger Zucker und weniger eiweißfällende Säure, die Verhältnisse werden damit für die Sarzina günstiger. Früher wurde mehr Hopfen verwendet und der Hopfen vor allem lange und gründlich ausgekocht, die Hopfenharze wurden dabei gründlich emulgiert und schafften weitere Eiweißmengen aus dem Bier heraus, die als alkalische Puffersubstanzen den Säuregrad erniedrigen. Heute nimmt man meist weniger Hopfen und kocht ihn auch nicht mehr so lange, vernachlässigt also auch in diesem Fall die geeigneten Vorbeugungsmaßnahmen dem Bierschädling gegenüber. Daß in Pilsen die Sarzina nicht Fuß fassen kann, führt Verf. darauf zurück, daß dort nach wie vor nach den alten Methoden gearbeitet wird: es werden maltosereiche Malze erzeugt, die zucker- und säurereiche Würzen liefern, aus denen man durch langes Maischen und kräftiges Hopfenkochen die gefährlichen Eiweißkörper weitgehend entfernt und damit die Lebensbedingungen der Sarzina erschwert. Heuß (Berlin).

Isotti, G., Der Endvergärungsgrad ist nicht abhängig von der Hefe, sondern von der Zusammensetzung der Würze. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 181—183.)

Drei verschiedene Würzen wurden mit einer Reihe von Hefen verschiedener Brauereien, die von diesen als hoch-, mittel- bzw. niedervergärend bezeichnet wurden, vergoren. Es zeigte sich, daß alle Hefen in derselben Würze denselben Endvergärungsgrad erreichten. Der Endvergärungsgrad ist

also keine ausgesprochene Eigenschaft einer Heferasse, sondern für alle Hefen gleich und nur von der Zusammensetzung der Würze abhängig.
Heuß (Berlin).

Hamburg, M., Über das Elmocid-Desinfektionsverfahren und dessen Verwendung in der Brauerei. (Die Brau- u. Malzindustrie. Bd. 26. 1933. S. 59—61.)

Für die Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels ist nach neueren Erkenntnissen neben Temperatur und Konzentration auch die Wasserstoffionenkonzentration ausschlaggebend. Die an sich geringfügige bakterizide Wirkung verdünnter Neutralsalzlösungen kann bedeutend gesteigert werden, wenn man die Lösung auf die optimale Wasserstoffionenkonzentration bringt. Ebenso kann die desinfizierende Kraft von verdünnten Säure- oder Alkalilösungen durch Zusatz geringer Mengen von entsprechenden Neutralsalzen in überraschender Weise gesteigert werden. So z. B. hat eine 1proz. Kochsalzlösung praktisch keine desinfizierende Wirkung; bringt man sie aber durch Zusatz von Natronlauge auf ein ph = 13, so erhält die Lösung wesentlich stärkere keimtötende Eigenschaften als eine 1proz. Phenollösung. Ähnlich wirkt der Zusatz von kleinen Mengen von salpetersaurem Kalium zu n/10 Salpetersäure. Auf dieser Grundlage ist das Elmocidverfahren der Elektroosmose-A.-G. aufgebaut.

Elmocid alkalisch besteht aus einem Gemisch von etwa 59% Kochsalz und 41% Natriumhydroxyd, Elmocid sauer besteht aus einer annähernd n/10-Lösung von Salpetersäure und Kaliumnitrat. Elmocid alkalisch ist infolge seiner eiweiß- und biersteinlösenden Eigenschaften ein gutes Desinfektionsmittel für Schläuche, Bierleitungen usf., Elmocid sauer ist besonders zur Reinigung von Aluminiumgefäßen geeignet, da es dieses Metall nicht angreift und auch vielfach biersteinlösend wirkt, ohne die gefährlichen nitrosen Dämpfe zu entwickeln, die bei Verwendung von Salpetersäure entstehen.

Zur Prüfung der Desinfektionskraft wurde das Verhalten der Elmocidlösung gegen Kulturhefe, Kahmhefe, Mucor, Penicillium und Milchsäurebakterien geprüft. Die Abtötung der für die Brauerei hauptsächlich in Betracht kommenden schädlichen Mikroorganismen erfolgte in vollkommen ausreichender Weise, lediglich Penicillium zeigte eine stärkere Widerstandskraft.
Heuß (Berlin).

Bode, G., Reinigung von Schlauchleitungen. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 129—130.)

Beim Durchgang von Würze oder Bier durch einen Kautschukschlauch ladet sich dessen Innenwandung positiv auf, während Kolloide und feindisperse Suspensionen dieser Flüssigkeiten, zu denen auch Mikroorganismen gehören, negativ aufgeladen werden und sich auf der Innenplatte des Schlauches auflagern. Diese Schicht, die im wesentlichen aus hochmolekularem Eiweiß besteht, haftet außerordentlich fest und läßt sich mit Wasser nicht abspülen; bei längerem Gebrauch des Schlauches wird sie immer dicker. Allmählich tritt eine Schrumpfung dieser Masse ein und die Innenplatte des Schlauches wird scheinbar rissig. In Wirklichkeit aber ist nur die aufgelagerte Schicht rissig, der Schlauch selbst ist unter dieser Schicht vollkommen glatt. Solange sie noch feucht ist, läßt sie sich durch warme Alkalien leicht wieder in einen weitgehenden Quellungszustand bringen, später bedarf es oft tagelanger Einwirkung einer warmen Sodalösung, um den Belag soweit zu erweichen, daß eine Entfernung mit der Bürste möglich ist. In

die auflagernde Schleimschicht gehen nun auch Mikroorganismen hinein, finden in ihr vielleicht sogar einen ausgezeichneten Nährboden, so daß derartige Schläuche eine gefährliche Infektionsquelle darstellen. Dem schleimigen, allmählich verhärtenden Belag ist mit den üblichen Desinfektionsmitteln so ohne weiteres nicht beizukommen, weil sie z. T. selbst plasmafällend wirken. Lediglich mit Alkalien, aber ohne Gehalt an unterchlorigsauren Salzen, sind derartige Beläge so aufzulockern, daß sie auf mechanischem Wege aus dem Schlauchinnern herausgebürstet werden können. Eine Desinfektion kann also erst ihren Zweck erfüllen, wenn die Innenplatte des Schlauches vollkommen von allen Auflagerungen befreit ist. Ein brauchbarer Schlauch wird durch eine Behandlung mit 1—2proz. Sodalösung oder 0,5—1proz. Natronlauge keinesfalls geschädigt. Heuß (Berlin).

Kretschmer, K., Sterile Bierfilter. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 185—189.)

Zur restlosen Entkeimung des Bierfilters kann man entweder Antiseptika verwenden oder sich der Wärme bedienen. Das erste Verfahren ist kostspielig, erfordert sorgfältige Überwachung und erhöhten Arbeitsaufwand. Gelangt das Desinfektionsmittel in das Bier, so wird die biologische und kolloide Festigkeit gestört. Bei der thermischen Entkeimung wurden bei Verwendung eines kombinierten Sterilisier- und Abkühlungsapparates der Enzinger-Unionwerke gute Erfahrungen gemacht. Die Filtermasse wird wie üblich gewaschen und erhitzt, das Filter wie gewöhnlich eingelegt. Darauf wird das Wasser des fertig gepackten und abgedrückten Filters mittels Umpumpen durch einen Erhitzungsbehälter auf Sterilisiertemperatur in Filter gebracht und diese eine Zeitlang eingehalten. Das gleiche Wasser wird dann auf demselben Wege durch den jetzt zur Abkühlung dienenden Behälter auf die gewünschte Tieftemperatur gebracht. Filterwasser und Filtermasse sind dadurch keimfrei gemacht, das Filter ist anlaufbereit. Während es bei der gewöhnlichen Art der Reinigung von Filtermasse nie ganz zu vermeiden war, daß in die eingelegte Masse wieder Keime hineingelangten, die im Anlaufwasser nachweisbar waren, erwiesen sich die Anlaufproben der mit heißem Wasser behandelten Filter steril. Heuß (Berlin).

Janensch, J., Biologische Mitteilungen. Wilde Hefeinfektion durch Natureisschmelzwasser. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 130—133.)

In einer Brauerei war das Bier im Gärkeller stark durch wilde Hefe infiziert. Das gärende Bier wurde dort durch offene Bottichschwimmer gekühlt, die mit Natureis beschickt wurden, das aus einem Teiche stammte, dem die Brauereiabwässer zugeleitet wurden. Es wurde bewiesen, daß die gesuchte wilde Hefe in dem Schmelzwasser dieses Eises enthalten war und mit diesem durch defekte Stellen der Bottichkühler in das Bier gelangte. Die Keime hatten also den Gefrierungsprozeß ohne Schaden überstanden, wie ja auch Kulturhefe und andere Organismen ohne Nachteil tieferen Temperaturen standhalten. Heuß (Berlin).

Burgwitz, G. K., Zur Frage der Ausnutzung von Algen für Alkoholgewinnung und Hefezüchtung. (Bull. Acad. Sc. URSS. Nr. 6. 1933. p. 837—848.) [Russisch.]

Zur Feststellung der Möglichkeit, aus Algen Alkohol zu gewinnen,

wurden verschiedene Hefekulturen und Kulturen einiger Schimmelpilze verwandt. Die Untersuchungen wurden mit 5% Absud der Laminaria Saccharina und dem Extrakt derselben in verschiedenen Konzentrationen ausgeführt. Es erwies sich, daß Sacch. cerevisiae, Sacch. ellipsoideus, Logos, Rio, Schizosacch. octosporus, Sch. Pombe, Asperg. oryzae keine Gärung hervorrufen. Spuren von Gärung ergab Monilia variabilis und etwas stärkere Gärung Mucor javanicus. Nach Hydrolyse des Laminarienabsudes (H_2SO_4 0,5%) wird Gärung nicht nur von Mucor javanicus hervorgerufen, sondern in etwas schwächerem Grade auch von Sacchar. ellipsoideus, Sacch. cerevisiae XII und Logos. Die Alkohollieferung ist bei Mucor javanicus-Gärung, dank der geringen Menge der gärenden Kohlenhydrate, unbedeutend (8—10,5 l Alkohol auf 100 kg Algen).

Weitere Versuche betrafen die Frage, ob Algen sich als Nährboden bei Gewinnung von Hefemasse eignen. Von der Oberfläche frischer Seealgen isolierte Torulopsis vermehrt sich in Algenwürze stärker als Brot- und Weinhefe. Die Backhefe Sacch. cerev. vermehrt sich in Laminariawürze bedeutend schwächer als in Bierwürze.

A. Imšenecki (Leningrad).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Glathe, H., and Cunningham, A., The obligate anaerobic microflora of farmyard manure. (Journ. Agric. Sci. Vol. 23. 1933. p. 541—554.)

In einer vorläufigen Untersuchung der obligat anaeroben Mikroflora von gewöhnlichem Stalldünger bzw. Edelmist, waren Stämme von Bac. sporogenes, B. bifermentans, B. tertius, B. tetanomorphus und B. saccharobutyricus isoliert worden. Eine anaerobe Zellulosezersetzung ließ sich mit Rohkulturen aus Edelmist durchführen. Flüssige Nährböden waren zur Beobachtung dieser Düngerbakterien viel besser geeignet als feste. Am besten erwiesen sich diejenigen, die Fleischsaft enthielten.

Nicol (Rothamsted).

Shrikhande, J. G., The Production of Mucus during the Decomposition of Plant Materials. I. The Effect of Environmental Conditions. (Biochem. Journ. Vol. 27. 1933. p. 1551—1562.)

Verf. studiert die Umstände des Hervorbringens der Klebrigkeit bei verrottendem Dünger- und Pflanzenmaterial, und erdenkt hierbei auch ein physikalisches Verfahren bzw. eine Apparatur. In Anwesenheit einer gemischten natürlichen, dem Stroh eigenen Flora, und bei einem End-p_H von 9,5—10,0, gab $NaNO_3$ oder Pilzgewebe als N-Quelle die höchste Klebrigkeit mit reinem, aber ungewaschenem Haferstroh.

Nicol (Rothamsted).

Shrikhande, J. G., The Production of Mucus during the Decomposition of Plant Materials. II. The Effect of Changes in the Flora. (Biochem. Journ. Vol. 27. 1933. p. 1563—1574.)

Fünf Bodenschimmelpilze und zwei Bodenbakterien (von welchen einer der bekannte zellulosezersetzende Schleimbildner, Spirochaeta cytophaga, war) wurden allein sowohl als auch in Mischungen bezüg-

lich ihrer Tätigkeit, Haferstroh zu verrotten und zu verkleben, untersucht. Allein konnte keiner dieser Organismen das Stroh klebrig machen. Nach Zersetzung des Strohes durch Pilze und späterer Impfung mit S. cytophaga fand Klebrigkeit immer statt, aber nicht nach Mitwirkung von Pilzen und Impfen mit dem anderen nicht zellulosezerstörenden Bakterium. Bei gleichzeitiger Impfung von S. cytophaga und Pilzen wurde die Masse nur wenig klebrig. Nicol (Rothamsted).

Fehér, D., Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Temperatur und Wassergehalt des Bodens auf die Lebenserscheinungen der Bodenbakterien. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 4. 1933. S. 447—486.)

Verf. sucht die schon bekannten Beziehungen zwischen Mikroorganismentätigkeit im Boden einerseits und Temperatur-Feuchtigkeit anderseits genauer festzulegen und findet, daß die durch Multiplikation von Temperatur (Grad C) und Feuchtigkeit (in Gew.-%) gewonnene Verhältniszahl (R) mit Zahl und Tätigkeit der Mikroorganismen parallel geht. Hierzu werden mathematische Berechnungen angestellt.

Der jahreszeitliche Verlauf der Bakterienzahl im Boden folgt der bekannten Robertsonschen Wachstumskurve.

Für nitrifizierende und denitrifizierende Bakterien wird das Optimum bei 25—30, für Stickstoffbinder bei 35, für Cellulosezersetzer bei 35—40, für Pilze zwischen 25—35° C gefunden. Bei höherer Temperatur ließen sich folgende Pilze züchten: 55° C: Penicillium crustaceum (30%), Aspergillus fumigatus (25%), Mucor mucedo (12%), Penicillium candidum (12%), Rhizopus nigricans (12%), Aspergillus ochraceus (5%), Botrytis epigaea (4%); bei 65° C: Rhizopus nigricans (40%), Mucor racemosus (20%), Botrytis epigaea (20%), Penicillium crustaceum (10%), Aspergillus fumigatus (10%). Erhitzen 3 Tage lang bei 100° C tötete manche Bakteriensporen nicht ab; diese Behandlung überstanden: Bacillus silvaticus (26%), B. brevis (26%), B. lobatus (12%), B. parvus (12%), B. panis (12%), B. ruminatus (12%).

Eine allmähliche Abnahme des Bakteriengehaltes führt Verf. auf den Verbrauch der Humusstoffe zurück, dem er auch eine erhebliche Rolle bei Änderungen der Wasserstoffionen-Konzentration zuspricht: z. B. werden die pH-Werte mit steigender Temperatur merklich höher, was durch Verarbeitung der leichtlöslichen sauren Humusstoffe erklärt wird.

Außer Angaben über die Zahl der Gesamtbakterien und der physiologischen Gruppen finden sich auch solche über Wasser-, Kohlenstoff-, Humus-, Stickstoff-, Nitratgehalt usw. Rippel (Göttingen).

Rokitzkaja, A. I., Biologische Phasen des im Erdboden Zellulose zersetzenden Mikroben Spirochaeta cytophaga und seine Verbreitung im Boden der Ukraine. (Pedology. Nr. 3. 1933. p. 209—224.) [Russisch.]

Zur Isolierung von Sp. Cytophaga wurde flüssiger Nährboden von Hutchinson und Clayton mit Erde versetzt oder es wurden auf Silikat-Agarplatten oder Quarzsand gelegte, mit Mineralnährböden durchtränkte Filtrierpapierstücke benutzt. Auch mit Zelluloseniederschlag be-

deckte Gipsblöcke wurden angewandt. Verf. verfolgte die Entwicklung der Sp. Cytophaga in der feuchten Kammer, die mit Nährboden durchtränkte Watte enthielt und stellte folgende Phasen ihrer morphologischen Veränderung fest. Erste Phase — typische, in der Mitte schwach gebogene Stäbchen, die sich an den Enden verjüngen. Während der mittlere Teil des Stäbchens intensiv gefärbt wird, bleiben die Enden der Zellen durchsichtig. Die zweite Phase zeigt Veränderung der Chromatinverteilung in der Zelle, indem das Chromatin in Körner zerfällt. Weiterhin, im Stadium der Sporoiden, werden die Stäbchen kürzer und nehmen ovale Form an. In der folgenden Phase bilden sich runde, nach Giemsa diffus gefärbte Zellen, sog. Mikrozysten (von 1—6 μ). Das Keimen dieser ruhenden Formen bildet die fünfte Entwicklungsphase, die von Zunahme der Chromatinsubstanz begleitet wird. Die Zellmembran platzt oder häufiger wird sie aufgelöst, wodurch die ovale Zelle frei wird. Verlängerung dieser Zelle und ihre Verwandlung in die typische, vegetative, schließt den Zyklus der biologischen Entwicklung der Sp. Cytophaga.

Verf. hält auf Grund der morphologischen Eigenschaften des Mikroorganismus die Benennung Cytophaga Hutchinsoni für geeigneter.

Hinsichtlich der physiologischen Eigenschaften verhält sich dieser aerophile Mikroorganismus elektiv ausschließlich zu Zellulose, während er sich in Gegenwart von Mannit, Lävulose, Galaktose, Saccharose, Maltose, Laktose, Raffinose, Stärke, Dextrin, Inulin und organischer Säuren nicht vermehrt. Die Zellulosezersetzung erfolgt nur in Gegenwart von assimilierendem Stickstoff, der in Mineralsalzen dem Nährboden zugefügt wird. Auf peptonhaltigen Nährböden wächst der Mikrobe, jedoch nur wenn die Peptonkonzentration nicht 1% übersteigt. Unter dem Einfluß von Sp. Cytophaga verwandelt sich die Zellulose in eine gallertartige Masse mit negativer Chlor-Zink-Jod-Reaktion. Qualitative Untersuchung ergab, daß die Verschleimung der Zellulose um so stärker verläuft, je reichhaltiger der Boden an Sp. Cytophaga ist. Im Verlauf von 12 Tagen kann die Zersetzung der Zellulose 92% erreichen. Die Bildung der sauer reagierenden Gallerte („weißer Humus") läßt vermuten, daß die Sp. Cytophaga bei der Humusbildung energisch mitwirkt. Hinsichtlich der Verbreitung des Mikroben in der Ukraine ist zu erwähnen, daß derselbe im Sand- und Lehmboden in der Tiefe von 15—25 cm vorkommt und nicht in allen Erdproben gefunden wird. In Schwarzerde ist die Sp. Cytophaga häufig und wird bis zur Tiefe von 45 cm gefunden. Starken Einfluß auf die Verbreitung der Sp. Cytophaga hat die Reaktion des Bodens. Als Optimum erwies sich ph = 7,0, jedoch ist in den Grenzen von ph = 5,4 bis ph = 8,5 Wachstum möglich. Untersuchung der Verbreitung der Sp. Cytophaga im Bereich der Wurzel verschiedener Pflanzen ergab, daß der Mikroorganismus in der Wurzelzone der Pinaceae, Orchidaceae, Betulaceae, Fagaceae, Moraceae, Papaveraceae u. a. fehlt. Dieser Umstand hängt nicht von der Veränderung der Bodenreaktion ab, sondern die Pflanzen veranlassen einen gewissen chemischen Zustand des Bodens, der die Entwicklung des Mikroben verhindert.

A. Imšenecki (Leningrad).

Mischustin, E. N., Die Anpassung der Bodenbakterien an klimatische Temperaturbedingungen. (Mikrobiology. Vol. 2. 1933. Nr. 2. p. 174—184.) [Russisch.]

Es wurde die minimale, optimale und maximale Temperatur für Bodenbakterien aus verschiedenen klimatischen Zonen (vom hohen Norden bis zum Süden) festgestellt. Geurteilt wurde nach der Größe der auf Agar sich entwickelnden Kolonien. Die optimale Temperatur für das Wachstum der Bodenbakterien war für die Bodenbakterien aus dem Nordgebiet 27 = 29°, aus dem Leningrader Gebiet 29—31°, aus der Krim 38—39°.

Kultivierung der Bakterien bei 18° zeigte, daß nördliche Bodenbakterien bei dieser Temperatur sich schneller entwickeln, als südliche. Beim Vergleich der mittleren Jahrestemperatur des Bodens und der Luft und des Temperaturoptimums für die Entwicklung der Bodenbakterien wurde eine unmittelbare Abhängigkeit zwischen diesen Werten festgestellt, jedoch war das Temperaturoptimum für die Bodenbakterien höher, als die Bodentemperatur der entsprechenden Gegend selbst in der warmen Jahreszeit ist. Dieser Umstand verhindert die Bodenbakterien, ihre potentielle Energie in vollem Maße zu bewahren und ihre Tätigkeit nimmt, je mehr sie sich dem Norden nähern, ab. Die Anpassungsfähigkeit der Bakterien an Temperaturbedingungen gleicht folglich den Einfluß der Schwankungen der Bodentemperatur in verschiedenen klimatischen Gebieten nicht aus.

A. Imšenecki (Leningrad).

Tyagny-Ryadno, M., The relations of Bacillus mycoides with ammonification, nitrification, and soil fertility. (Journ. Agric. Sci. Vol. 23. 1933. p. 335—358.)

Auf Grund von Laboratoriums- und Felddüngungsversuchen auf verschiedenen Bodentypen in Rußland werden relativ kleine Mengen von Phosphorit (0,3—0,5 Tonnen pro ha) zusammen mit 5—6 Tonnen Stalldünger pro ha als rationelle Düngung für die meisten Kulturgegenden der U.S.S.R. empfohlen. Tatsächlich hat diese Düngungsart Zunahmen der Ernten bei Getreide und Leguminosen zu verzeichnen.

Nach Verf. besteht die günstige Wirkung des Stalldüngers höchstens in seinem Zubringen von B. mycoides, welches durch seine Säurebildung die Auflösung von Phosphorverbindungen beschleunigt, die sonst nur langsam oder nicht verfügbar werden. In Gegenwart von Phosphorit können die Bakterien ammonifizierend wirken, worauf die Nitrifikation einsetzt, woraus gefolgert wird, daß der Intensitätsgrad der Nitrifikation in Tschernosiomböden von der Tätigkeit des B. mycoides abhänge.

(Bezügl. des Einflusses kleiner Mengen Stalldüngers siehe zum Vergleich der scheinbar biologisch übereinstimmenden Ergebnisse: Hartley, K. T., and Greenwood, M., The Effects of Small Applications of Farmyard Manure on the Yields of Cereals in Nigeria. Empire Journ. Exper. Agric. Vol. 1. 1933. p. 113—121.) Nicol (Rothamsted).

Fischer, F., Lieske, R. und **Winzer, K.,** Biologische Gasreaktionen. II. Mitt. Über die Bildung von Essigsäure bei der biologischen Umsetzung von Kohlenoxyd und Kohlensäure mit Wasserstoff zu Methan. (Biochem. Z. Bd. 245. 1932. S. 2—12.)

In Gegenwart von Faulschlamm setzt sich Kohlenoxyd mit Wasser zu Kohlendioxyd und Wasserstoff um. Das entstehende Kohlendioxyd wird in Gegenwart von Wasserstoff in Methan verwandelt, wobei sich Wasser bildet. Letztere Reaktion verläuft stets über Essigsäure als Zwischenprodukt. Diese Säure reichert sich unter bestimmten Umständen in den Kulturen an.

kalkbrühe 7 £ 19 sh 4 d. Verf. ist der Ansicht, daß bei der Spritzung mit Schwefelkalkbrühe Spritzköpfe mit größeren Durchbohrungen als bei Kupferkalkbrühe verwendet werden können. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Moore, M. H., Spraying experiments on the control of pear scab at East Malling. (Journ. of the Ministry of Agriculture. Vol. 40. 1933. p. 111—119, 4 figs.)

Bei den Versuchen zur Bekämpfung des Birnenschorfes wurden 1931 und 1932 angewendet: Kupferkalkbrühe 8 lb $CuSO_4$, 8 lb Branntkalk auf 100 Gallonen, dieselbe Brühe aber statt des Branntkalkes 12 lb gelöschten Kalk, Schwefelkalkbrühe vor der Blüte 1 : 30, nach der Blüte 1 : 60, kolloidaler Schwefel vor der Blüte 8 lb auf 100 Gallonen, nach der Blüte 4 lb auf 100 Gallonen. Zur Bekämpfung tierischer Schädlinge wurden 4 lb Bleiarsen auf 100 Gallonen zugesetzt. 1932 wurde die Schwefelkalkbrühe nach der Blüte 1 : 100 verspritzt. Außerdem wurde in den Versuchen mit kolloidalem Schwefel die Vorblütenspritzung mit Schwefelkalkbrühe 1 : 30 durchgeführt. Die 1. Spritzung erfolgte in dem „Weißknospen"-Stadium, die 2. beim Abfall der Blütenblätter und die 3. 3 Wochen später. Die mit Schwefelkalkbrühe behandelten Bäume zeigten 1931 starke Blattverbrennungen, 1932 dagegen nicht. Allerdings wurde mit einer schwächeren Brühe nach der Blüte gespritzt. Mit Branntkalk angesetzte Kupferkalkbrühe verursachte 1931 starke Verbrennungen an Blättern und Früchten, 1932 waren die Verbrennungen schwach. Verf. führt das auf den größeren Kalkzusatz zurück. Mit gelöschtem Kalk angesetzte Kupferkalkbrühe beschädigte 1931 nur die Früchte. Die Wirkung von kolloidalem Schwefel gegen Schorf war ungenügend. Schwefel- und Kupferkalkbrühe mit Branntkalk waren in der Wirkung gleich. Kupferkalkbrühe mit gelöschtem Kalk wirkte 1931 schlechter als die beiden anderen Brühen, 1932 dagegen besser.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Link, G. K. K., and Ramsey, G. B., Market diseases of fruits and vegetables: Potatoes. (U. S. Departm. Agric. Miscell. Publ. No. 98. 1932. 62 p.)

Alle in den Vereinigten Staaten von Nordamerika vorkommenden Krankheiten und tierischen Beschädigungen an Marktkartoffeln werden in verständlicher Form hier abgehandelt, wobei nicht nur das Krankheitsbild ausführlich beschrieben ist, sondern vielfach auch auf die Ursache des näheren eingegangen wird und Maßnahmen zur Verhütung bzw. Bekämpfung angegeben werden. Auch der Schädigungen der Kartoffeln durch chemische Einflüsse, sowie durch Frost, Hitze u. dgl. ist gedacht. Ferner sind abnorme Erscheinungen, wie übermäßig starke Lentizellenwucherung, Hohlherzigkeit, Kindelbildung usw. besprochen. Bei den bakteriellen Erkrankungen wird merkwürdigerweise zwischen „bacterial soft rots (slimy soft rot)" und „blackleg (tuber rot)" unterschieden, wobei als Ursache der ersteren Bac. carotovorus, B. aroideae und Bac. mesentericus angeführt werden, während für die letztere Bac. phytophthorus verantwortlich gemacht wird, der ebenso wie Bac. solanisaprus eine wichtige Rolle bei Knollenfäule in Mieten spielen soll. (Es scheint, daß die Arbeit des Ref. über die Knollennaßfäule der Kartoffel den Verff. nicht bekannt ist!) Zur Erläuterung des Textes sind dem Büchlein, das als Leitfaden für die den Markt kontrollierenden Organe geschrieben ist, noch 14 meist farbige Tafeln beigegeben. Stapp.

Abgeschlossen am 31. März 1934.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 90. No. 5/8.
Ausgegeben am 29. Mai 1934.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die koprophilen Pilze unserer Haustiere

[Aus dem Botanischen Institut der Universität Greifswald.]

Von **Karl Stoll.**

Mit 12 Abbildungen im Text.

A. Einleitung.

Die koprophile Pilzflora unserer Haustiere stellt eine in vieler Hinsicht bemerkenswerte, etwa die Hälfte sämtlicher mistbewohnenden Formen umfassende ökologische Einheit dar, an deren Zusammensetzung sich Vertreter aller größeren systematischen Klassen beteiligen. Die überwiegende Mehrzahl der Arten gehört den Ascomyceten an, wohingegen Mucorineen, Agaricineen, Imperfecten und Myxomyceten in den Hintergrund treten. Die den letzteren Klassen angehörenden Formen, ferner die Gattungen Penicillium, Chaetomium und Gymnoascus unter den Ascomyceten sind auch auf nicht misthaltigen Substanzen beobachtet worden, was in dem Vermögen dieser Organismen, alle in Zersetzung befindlichen organischen Substanzen zu verarbeiten, eine hinreichende Erklärung findet. Für die obligatorischen Formen, zu denen Schmidt (37) die Ascoboleen, Sordarien und einige Pilobolus-Arten sowie die Gattungen Chaetocladium, Piptocephalis und Syncephalis rechnet, sind engere Bindungen an die natürlichen Standorte bekannt geworden. In einer Reihe von Fällen konnte festgestellt werden, daß für die Keimung der Sporen eine Darmpassage notwendig ist, und daß die Begünstigung auf chemische und Temperatur-Einflüsse zurückgeführt werden muß [Massee und Salmon (28), Schmidt (37)]. Auch der normale Ablauf der weiteren Entwicklungsphasen — Myzelwachstum und Fruchtkörperbildung — erwies sich bei den genannten Formen vielfach von der Gegenwart misthaltiger Substanz abhängig [Dodge (12), Dowding (13)], wenn auch eine eingehendere Analyse dieser Beziehungen bisher nur für einen einzigen Vertreter der obligaten Mistpilzflora (nämlich Pilobolus) vorliegt [Bersa (4)].

Hinsichtlich der Besiedlung des Substrates zeigen die koprophilen Pilze eine zuerst von Massee und Salmon (28) erkannte, später von Bachmann (1) ausführlicher beschriebene, regelmäßig wiederkehrende Gesetzmäßigkeit, die in der zeitlichen Aufeinanderfolge einzelner Pilzformationen besteht. Die Erscheinung wird auch auf faulenden Früchten und anderen, von Saprophyten bevorzugten Substanzen beobachtet und hier wie in ähnlich gearteten Fällen auf eine einseitig gerichtete Beeinflussung der Organismen dahingehend zurückgeführt, daß der Vorgänger jeweils dem Nachfolger innerhalb der Sukzession die Entwicklungsbedingungen schafft bzw. verbessert [Cook (9)].

Vorliegender Untersuchung liegt die Frage zugrunde: Ist die von Bachmann festgestellte Gesetzmäßigkeit auf den Exkrementen all-

gemein verbreitet, und wieweit greifen Außenfaktoren (Temperatur, Feuchtigkeit, Reaktion und Licht) modifizierend in den Verlauf der Sukzession ein?

Die Ergebnisse der im folgenden dargestellten Versuche gestatten eine Beurteilung der Frage, ob die Cooksche Annahme auch für die Bachmannsche Pilzfolge zutrifft, ferner ergeben sich aus ihnen praktische Richtlinien zur Gewinnung gut fruktifizierender Rohkulturen.

Den Ausgangspunkt bildet eine Bewertung der durch verschiedenartige Ernährung der Tiere [vgl. Brefeld (7), Pringsheim (32)] bedingten chemischen und strukturellen Eigentümlichkeiten des Substrates und ihrer Rückwirkungen auf die Fruktifikation.

B. 1. Allgemeines über die verschiedenen Mistarten und ihre Verwendbarkeit für Kulturzwecke.

Wie nachfolgende Tabelle zeigt, verteilen sich die Fundorte koprophiler Pilze auf die verschiedensten Mistarten, wobei eine Bevorzugung der Exkremente pflanzenfressender Tiere, insbesondere Pferd, Kuh und Schaf, deutlich erkennbar ist. Diese liefern daher auch, namentlich in frischem Zustande, das geeignetste Substrat für Koprophytenkulturen.

Tab. 1. Liste der Fundorte koprophiler Pilze, nach Mistarten geordnet.

Substrat	Myxomyceten	Phykomyceten	Ascomyceten	Hymenomyceten	Imperfecten	Nr. des Lit.-Verz.
Pferdemist . .	2	43	105	17	21	14, 17, 22, 27, 28, 30, 34, 37, 38, 42
Kuhmist . .	1	3	93	4	5	1, 17, 22, 27, 28, 30, 34, 35, 37, 38, 42
Schafmist . .	1	8	54	6	13	17, 27, 28, 29, 37, 38, 42
Ziegenmist . .	—	7	27	—	5	17, 28, 34, 37, 38
Hundemist .	—	8	27	—	1	14, 17, 19, 22, 27, 28, 30, 34, 38
Mäusekot . .	—	4	11	—	1	27, 28, 34, 42
Eselmist . . .	—	—	3	—	—	6, 30
Katzenmist .	—	1	1	—	—	27, 28
Rattenmist .	—	5	4	—	—	14, 27, 28, 34, 42
Meerschweinchenkot . .	—	—	3	—	—	28
Hühnermist .	—	—	—	—	1	27
Gänsemist . .	—	3	6	—	6	27, 28, 34, 42
Taubenmist .	—	1	—	—	3	28
Kaninchenmist	2	6	75	—	11	14, 27, 28, 30, 34, 42

Fleisch-, Alles- und Körnerfresser kommen in nur untergeordnetem Maße in Betracht, was teilweise mit der Art der Ernährung zusammenhängt. Von den Ausscheidungen des Geflügels zeichnen sich Hühner- und Taubenkot durch hohen Nährstoffgehalt aus, ihre Verwertbarkeit für die Rohkulturen ist jedoch eine geringe. Die Substanzen entwickeln bei längerem Stehen unter der Glasglocke Ammoniak [Kofler (25)]. Die hierdurch

hervorgerufene Alkalität des Substrates sowie direkte Giftwirkungen des Ammoniaks [Bokorny (5)] können die Ursache des mangelhaften Pilzwachstums sein. Hinzu kommt die vielfach kalkige, zur Krustenbildung neigende Konsistenz, die für die Myzelien zweifellos ein mechanisches Hindernis darstellt.

Raubtiermist (Hund, Katze) eignet sich zu Kulturzwecken ebenfalls nur wenig, ist aber andererseits durch bestimmte, noch unbekannte Faktoren ausgezeichnet, die das Auftreten charakteristischer Arten (Boudiera canina Cr., Rhyparobius caninus Auersw., Isaria felina Fr., Periconia felina March.) ermöglichen. Das gleiche trifft für den Kot der Nager zu.

Die Verwendung von nur frischem Mist empfiehlt sich aus 2 Gründen:

1. Durch das Liegen in der Sonne vertrocknet der Mist unter Bildung einer festen Kruste, die Kolloide gerinnen und werden als Nährboden für die Myzelien ungeeignet, durch anhaltenden Regen werden die Nährstoffe fortgeschwemmt und der Mist wird bis zur Erschöpfung ausgelaugt.

2. Kompaktere Mistarten, zu denen auch als der wertvollste der Schafmist gehört, werden gerne von Schmeißfliegen heimgesucht, die ihre Eier in den Mist legen. Unter der Glasglocke entwickeln sich alsdann in wenigen Tagen Larven, die das Substrat durchwühlen und so keine Myzelien aufkommen lassen.

Wie von vornherein anzunehmen ist, spielen die chemische Zusammensetzung, der Wassergehalt und andere Faktoren für die Eignung des Rohsubstrates zu Kulturzwecken eine wichtige Rolle. Die chemische Zusammensetzung ergibt sich nach Kellner und Fingerling (23) aus derjenigen des zur Fütterung verwandten Materials abzüglich der verdauten Bestandteile und zuzüglich der vom Darm gelieferten Fermente und Bakterien, wie nachfolgende Tabelle zeigt.

Tab. 2. Verdauung von Grünfutter, Durrheu und Roggenstroh durch das Pferd (nach Kellner und Fingerling, a. a. O.).
(Angaben in Prozenten des Frischgewichts. a = vorhanden, b = verdaut, c = Differenz a—b)

Wasser	Rohprotein			Rohfett			N-freie Extraktstoffe			Rohfaser			Asche
	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c	a
1. Grünfutter.													
80,0	3,2	2,5	0,7	0,8	0,4	0,4	9,7	7,3	2,4	4,0	2,6	1,4	2,0
2. Durrheu.													
14,3	9,7	5,4	4,3	2,5	1,0	1,5	41,0	25,7	15,3	26,3	15,0	11,3	6,2
3. Roggenstroh.													
14,3	3,1	0,6	0,5	1,3	0,4	0,9	33,2	12,9	20,3	44,0	22,0	22,0	4,1

Die durch verschiedene Ernährungsweisen hervorgerufenen Abweichungen in der Zusammensetzung des Mistes erstrecken sich mithin vornehmlich auf den Gehalt an lebenswichtigen als Kohle- bzw. Stickstoffquellen in Betracht kommenden Substanzen:

1. Das Rohprotein und seine Spaltprodukte (Albumosen und Peptone);
2. die Rohfaser (Zellulose und Hemizellulosen);
3. die stickstoffreien Extraktstoffe (einfache Kohlehydrate, Galaktane, Magnane, Pektine, Schleime).

Von ihnen sind einige bereits als vorzügliche Nährstofflieferanten für koprophile Pilze bekannt geworden: Zellulose für Chaetomium [Zopf (44); Ramlow (23)], Podospora anserina [Wolf (43)], Ascoboleen [Ramlow (33); Schweizer (39); Green (16); Gwynne-Vaughan (18)], Eiweißstoffe und verwandte Körper für verschiedene Arten [Schweizer (39)], Pentosane für Pilobolus [Bersa (4)]. Über die nicht näher erforschte Rolle der Bakterien vergleiche Molliard (29), Dodge (11), Baden (3), Delitsch (10).

Eine Wirkung verschiedener Ernährungsweise der Pflanzenfresser auf den Bestand der Koprophytenflora konnte in vielen Fällen nachgewiesen werden. Bachmann (1) erwähnt, daß Karrengäule, die mit grobem Heu gefüttert wurden, einen Mist liefern, der für Pilzstudien ganz ungeeignet sei. Als am besten erweise sich Mist von Hafernahrung. Nach Versuchen des Verf.s ergab sich, daß beim Pferd eine Fütterung mit Grünfutter, Heu oder Hafer-Heu-Mischung keinen Einfluß auf die Pilze hatte. Dagegen erwies sich eine Ernährung des Rindes mit Stroh und stärkehaltigen Substanzen (Kartoffeln oder Mehl) für die Koprophytenvegetation als nachteilig. Beim Schaf trat der Einfluß einer abweichenden Ernährung dahingehend zutage, daß auf Mist von Tieren, die Körner (Roggenähren auf dem Stoppelfeld) gefressen hatten, im Laufe von 3 Wochen nicht ein einziger Koprophyt erschien, mit Ausnahme eines gemeinen Schimmelpilzes. In der gleichen Zeit hatte sich auf Mist von Tieren, die auf einer Wiese geweidet hatten, die gesamte Vegetationsperiode mit etwa 20 verschiedenen Arten abgespielt, und zwar unter den gleichen äußeren Umständen. Die nachteilige Wirkung auf die Pilze ging soweit, daß Mucorineen (Pilobolus longipes und Kleinii), deren Sporen auf sterilen, von körnerfressenden Tieren stammenden Mist geimpft waren, nur spärlich auftraten, wohingegen sie auf normalem Grünfuttermist, der ebenso behandelt worden war, in großen Massen erschienen.

Viel stärker als die durch verschiedene Ernährungsweise hervorgerufene qualitative Veränderung des Substrates wirkt sich der Grad der Verdauung des gefressenen Materials auf die Pilzflora aus. Pferdemist, der infolge unvollständiger Zellulosespaltung zahlreiche intakte, chlorophyllführende Zellen und im Zusammenhang damit eine deutlich grüne Färbung aufweist, scheidet für Pilzkulturen vollständig aus. Auf einem derartigen Substrat erschienen nach 10 Tagen einige, etwa 20 Sporangienträger von Pilobolus longipes, sowie nach Ablauf weiterer 3 Tage vereinzelt Fruchtkörper von Coprinus spec. und Ascophanus spec. Die übrigen Ascomyceten entfielen. Daß eine im Zusammenhang mit der mangelhaften Verdauung stehende unvollkommene Eiweiß- und Zellulose-Spaltung den Gehalt an assimilierbaren Nährstoffen herabsetzt und damit das Auftreten einer Reihe von Pilzen unmöglich macht, liegt auf der Hand. In gleicher Weise kann man beim Körnerschafmist das Fehlen der Pilze auf eine unvollständige Verdauung zurückführen. Auffallenderweise sind es gerade die Formen mit weitgehend angepaßten Sporen, die vermißt werden. Es ist wohl denkbar, daß die der Darmpassage bedürfenden Sporen nicht die richtigen Keimungsbedingungen vorfanden und daher entweder gar nicht auskeimten oder zugrunde gingen.

Über die elementare Zusammensetzung und den Wassergehalt verschiedener Düngerarten gibt die Tabelle von Stutzer (Mentzel und v. Lengerkes, Landwirtschaftlicher Kalender, 1919) einige Auskunft. Diese Zahlen sollen jedoch nur zur allgemeinen Informierung benutzt werden, nicht als Durchschnittszahlen, da sich unter verschiedenen Fütterungsverhältnissen große Abweichungen zeigen.

Tab. 3. Elementarzusammensetzung der Düngerarten nach Stutzer, a. a. O.

Dünger (frischer)	Wasser in ‰	Organ. Subst. Asche	Stickstoff	Kali	Kalk	Magnesia	Phosphorsäure
Pferdemist	750	230	5,60	3,0	2,3	1,0	3,0
Rindermist . . .	835	150	5,9	1,4	2,4	1,8	2,8
Schafmist	680	295	6,2	1,7	4,0	2,4	3,0
Schweinemist . .	800	160	6,0	5,0	0,5	0,2	6,0

Für mykologische Untersuchungen haben diese Angaben zum Teil nur geringen Wert, da sie sich auf die frische Substanz beziehen, die sich beim Liegen bald zersetzt. Hinzu kommen die durch die Stoffwechselprodukte der Pilze und Bakterien hervorgerufenen Veränderungen. Der Mist stellt ein stetig wechselndes, physikalisch und chemisch nur schwer erfaßbares Gemenge von festen, flüssigen und gasförmigen, organischen und anorganischen, amorphen und kolloidalen Bestandteilen dar. Ein derartig verwickeltes Substrat entzieht sich naturgemäß dem Bereich elementarer Untersuchungsmethoden. Immerhin geben obige Zahlen über den Wasser- und Nährstoffgehalt einigen Aufschluß, was für Kulturzwecke von Wichtigkeit ist.

Aus der Tabelle ersieht man, daß Kuh- und Schweinemist feuchter sind als Pferde- und Schafmist. Dieses ist beim Ansetzen von Rohkulturen zu beachten. Während letztere Mistarten zweckmäßig etwas angefeuchtet werden, sollen erstere, die zuviel Wasser enthalten, vorher etwas austrocknen, wie Delitsch (10) richtig bemerkt. Ein zu feuchtes Substrat hemmt die Entwicklung des Myzels nicht, zögert aber die Bildung der Fruchtkörper um Tage und Wochen hinaus. Daß zu große Substratfeuchtigkeit auf das Myzel nicht nachteilig wirkt, erkennt man daraus, daß nach Herstellung des Feuchtigkeitsoptimums die Fruchtkörper sofort, oft bereits am nächsten Tage erscheinen [vgl. Brefeld (7)].

Von allen Mistarten erwies sich bei meinen Versuchen der Schafmist für Kulturzwecke weitaus am geeignetsten. Daß man die meisten Koprophyten auf Pferdemist gefunden hat, liegt daran, daß dieses Material leichter zu beschaffen ist und daher eingehender untersucht wurde. Die Überlegenheit des Schafmistes als Rohsubstrat für koprophile Pilze regibt sich aus folgenden Beobachtungen:

1. Auf Schafmist traten nahezu ebensoviele Arten auf, wie auf allen anderen Kulturen zusammengenommen. Alle Arten, die die Pferde-, Esel-, Kuh-, Ziegen- und Schweinemistkulturen hervorbrachten, stellten sich auch auf Schafmist ein.

2. Die betreffenden Arten traten auf Schafmist viel üppiger auf, insbesondere: Pilobolus Kleinii, ödipus und longipes, Podospora fimiseda, Ascobolus stercorarius und immersus, Saccobolus Kerverni.

3. In Reinkulturen auf sterilem Mist bzw. Mistdekoktagar verhielten sich die Pilze ähnlich. Viele von ihnen gediehen auf sterilem Schafmist oder Dekokt besser als auf ihrem eigenen, für die Reinkulturen sterilisierten Rohsubstrat.

4. Die Sporenkeimung vieler Arten gelang, wenn überhaupt, stets besser in Schafmistdekokt als in anderen Dekokten. Sporen von Podospora

fimiseda, Sordaria fimicola und Ascophanus carneus, die von Kuhmist-Reinkulturen stammten, keimten in Schafmistdekokt zu einem höheren Prozentsatze aus als in Kuhmistdekokt. Ebenso gelang die Keimung der Sporen von Saccobolus Kerverni, der einer Ziegenmist-Strohkultur entnommen war, leichter in Schafmist-, als in Ziegenmistdekokt.

5. Ganz allgemein war die Zahl der fehlgeschlagenen Roh- und Reinkulturen und Keimungsversuche bei Verwendung von Schafmist kleiner als diejenige bei Verwendung anderer Mistarten.

Ob diese bevorzugte Stellung des Schafmistes lediglich auf seinem bedeutenden Nährstoffgehalt beruht, oder ob andere für das Auftreten der Pilze ausschlaggebende Faktoren bei diesem Substrat in vollkommener Weise verwirklicht sind, konnte nicht entschieden werden.

Allgemein gilt für alle Mistarten, daß sich eine reichhaltige Koprophytenflora keineswegs einfach durch Verwendung großer Substratmengen erzielen läßt, sondern ausschließlich durch genaue Beachtung der jeweiligen Kulturbedingungen und Ansprüche der einzelnen Arten. Diese Bedingungen sind dann als verwirklicht anzusehen, wenn auf kleinstem Areal größter Überfluß herrscht. In den im folgenden dargestellten Untersuchungen ist dieser Gesichtspunkt für die Beurteilung der optimalen Kulturbedingungen maßgebend gewesen.

B. 2. Die normale Pilzfolge und ihre Beeinflussung durch die Lufttemperatur.

Methodisches.

Die frischen Mistproben wurden in natürlicher Ballung auf Teller oder ähnliche geeignete Unterlagen gelegt, feuchte Mistarten auf Sägespäne, Holzstäbchen oder Filtrierpapier ausgebreitet und mit einer feucht ausgekleideten Glasglocke bedeckt. Durch Aufgeben von Wasser auf das Filtrierpapier konnten der Wassergehalt des Substrates und die Luftfeuchtigkeit hinreichend reguliert werden.

Behandelt man die Mistproben in der angegebenen Weise, so stellen sich, wie bereits in der Einleitung hervorgehoben wurde, die Koprophyten in gesetzmäßiger, zeitlicher Aufeinanderfolge ein. Die Reihe beginnt mit den Myxomyceten und Mucorineen, wird von den Ascomyceten fortgesetzt und schließt mit der Basidiomyceten-Fruktifikation (über die Einreihung der Imperfekten vgl. S. 108). Diese zuerst für Pferdemist [Bachmann (1)] bekanntgewordene Pilzfolge konnte vom Verfasser auch auf Esel-, Kuh- und Schafmistkulturen, seltener auf Ziegenmist festgestellt werden, erwies sich jedoch in allen untersuchten Fällen von Außenfaktoren so weitgehend abhängig, daß sie nur innerhalb bestimmter, eng umgrenzter Versuchsbedingungen in Erscheinung trat. Namentlich üben Lufttemperatur und Wassergehalt der Exkremente, wie im folgenden gezeigt werden soll, einen beträchtlichen Einfluß auf den Zeitpunkt und die Intensität der Fruktifikation und damit auch auf die Pilzfolge aus. Der Einfluß machte sich auf sämtlichen Kulturen geltend und erstreckte sich mehr oder weniger gleichmäßig auf die beobachteten Spezies.

Die Pilzfolge einer Rohkultur ermittelte Verf. in der Weise, daß der Zeitpunkt des Auftretens, der Sporenreife und des Verschwindens der einzelnen Arten notiert und in Form einer Tabelle, für jede Kultur gesondert geführt, zusammengestellt wurde. Nach Ablauf der Kulturperiode erfolgte die graphische Darstellung der Ergebnisse, indem auf der Abszisse eines rechtwinkligen Koordinatensystems die Zeit in Tagen,

auf der Ordinate die Werte einer willkürlich gewählten, die Steigerung der Fruktifikation charakterisierenden Skala (1 = geringe, 4 = stärkste beobachtete Fruchtkörperbildung) aufgetragen und die sich ergebenden Punkte zu Kurvenzügen verbunden wurden. Hierbei ist zu bemerken, daß der zahlenmäßige Umfang der Fruchtkörperbildung infolge der individuellen Verschiedenheiten nur ein relatives Maß der Menge darstellt, das lediglich für eine bestimmte Pilzformation gilt. So entfallen bei dichtem, lückenlosem Bestande auf 1 qcm Kulturfläche: 5 Sporangienträger von Pilobolus, 3 Perithezien von Podospora, 1—2 Apothezien von Ascobolus, 1 Fruchtkörper von Coprinus.

Diese graphische Darstellung ergibt ein besonders übersichtliches Bild des gesamten Vegetationsverlaufes, auch wird der Vergleich unter verschiedenen äußeren Einwirkungen abgelaufener Kulturperioden wesentlich erleichtert.

Bei kritischer Beurteilung derartiger Diagramme ist jedoch stets zu beachten, daß sich in ihnen die Pilzfolge naturgemäß in keinem Falle so widerspiegelt, wie es dem Verlauf unter Konstanz sämtlicher Umweltfaktoren entsprechen würde. Im einzelnen stellt die Pilzfolge nur das sichtbare Resultat eines komplizierten Zusammenspiels wechselnder, von außen einwirkender Kräfte dar. So trat in zwei Kulturen die Ascophanus-Vegetation plötzlich zurück, um erst nach Tagen wieder zu erscheinen. Es lag hier eine durch intensive Sonnenbestrahlung hervorgerufene übermäßige Austrocknung der Luft und des Substrates vor, die der Pilz nicht vertrug und daher die Fruktifikation einstellte.

Daß eine völlige Konstanz sämtlicher maßgebender Außenfaktoren nicht zu erreichen ist, ergibt sich sofort, wenn man die ständigen Zersetzungsprozesse, die sich im Substrat im Laufe der Kulturperiode vollziehen, in Betracht zieht. Ob die gleiche Pilzfolge auch eintreten würde, wenn sämtliche physikalischen und chemischen Faktoren konstant wären, muß offen gelassen werden.

Um ein Bild von der Bedeutung der Lufttemperatur für die Pilzfolge zu erhalten, wurden Parallelversuche in einem Gewächshaus bei Temperaturen zwischen 20 und 35°, in einem Keller bei 14—16° und im Zimmer bei 18° angesetzt.

Unter günstigen allgemeinen Entwicklungsbedingungen vollzieht sich die saprophytische Besiedlung, wie aus beiliegenden Diagrammen ersichtlich ist, folgendermaßen:

1. Pferdemistkulturen (Abb. 1).

Bei 25° erscheint auf frischen Exkrementen in der Regel nach 1—2 Tagen der Myxomycet Copromyxa protea, gleichzeitig oder wenige Tage später die Mucorineenflora: Mucor-, Chaetocladium-, Thamnidium-, Pilobolus-Arten. Nach etwa 8 Tagen wird diese von den Ascomyceten abgelöst. Es traten auf: Sordaria fimicola, verschiedene Podospora-Arten, weniger häufig Chaetomium- und Sporormia-Arten, häufig Ascobolus glaber, stercorarius, immersus, ferner Saccobolus, insbesondere die in der Liste verzeichneten Arten (vgl. S. 108), und Lasiobolus equinus. Die Fruktifikation schließt nach 2—3 Wochen ab. Während dieser Zeit, mitunter auch, namentlich auf zersetztem Mist, bereits nach dem Erlöschen der Mucorineen-Flora [vgl. Kniep (24)], beginnt die Coprinus-Fruktifikation, hauptsächlich vertreten durch C. stercorarius, lagopus, ephemerus und ephemeroides, ferner erscheinen, besonders auf im Freien lagerndem Mist, Panaeolus- und Stropharia-Arten. Daneben stellen sich zahlreiche Imperfekten ein. Schließlich finden auf dem völlig zersetzten Substrat gewisse Ascomyceten (Peziza vesiculosa, Poronia punctata, Xylaria Tulasnei)

gelegentlich günstige Fruktifikationsbedingungen [vgl. Rehm (34), Schroeter (38), Winter (42)]. Auf den Kulturen des Verf.s fehlten sie.

Die Diagramme lassen weiterhin erkennen, daß Pilobolus-Sporangien bei allen drei Temperaturen auftraten, bei 18° sich jedoch später einstellten als sonst. Dies Verhalten konnte hier wie in ähnlichen Fällen auf ungünstige Feuchtigkeitsverhältnisse zurückgeführt werden.

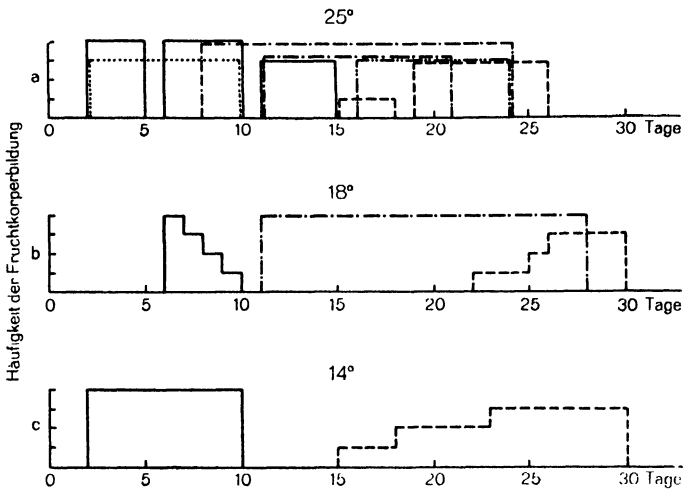


Abb. 1. Pilzfolge auf Pferdemistkulturen.

Zeichenerklärung:

—— ——— Pilobolus spec. — — · — — Sordaria spec.
— — — — Coprinus spec. — · · — · · Saccobolus spec.
— · — · — Ascobolus spec. ..... Copromyxa spec.

a = Pilzfolge bei 25°, b = Pilzfolge bei 18°, c = Pilzfolge bei 14°.

Anmerkung: Die Bezeichnung „spec." umfaßt hier wie in den folgenden Abbildungen eine Anzahl Formen mit gleichartigem Verhalten.

Ascomyceten traten bei 25° reichlicher auf als bei 18°, bei 14° fehlten sie, fanden sich jedoch stets, auch nach Ablauf der normalerweise auf sie folgenden Coprinus-Vegetation ein, wenn die Temperatur nachträglich erhöht wurde.

Coprinus fehlte bei keiner der genannten Temperaturen.

2. Kuhmistkulturen (Abb. 2).

Der Verlauf ist bei 25° im großen und ganzen der gleiche, die normale Sukzession aber nicht so ausgeprägt wie auf Pferdemist. Die Mucorineenflora zeichnet sich meistens durch das Fehlen der Mucor-, Thamnidium- und Chaetocladium-Arten aus. Häufigste Vertreter sind Pilobolus Kleinii und crystallinus, das zeitlich vielfach unterbrochene Erscheinen der Sporangien beruht auf der Bildung sekundärer Mycelien aus Sporen, die von der vorhergehenden Pilobolus-Generation auf das Substrat geschleudert wurden.

Copromyxa protea fehlt nur selten.

Von den Ascomyceten folgen auf die Piloboli in der Regel Ascophanus carneus, Ascobolus stercorarius, A. immersus,

Saccobolus- und Podospora-Arten, Sporormia minima, Sordaria fimicola. Von den Imperfecten sind Oedocephalum glomerulosum und die Trichothecium-Arten nicht seltener als auf Pferdemist.

Coprinus ephemerus, ephemeroides und stercorarius, letzterer namentlich Sklerotien bildend, können im Anschluß an die Ascomyceten mit Sicherheit erwartet werden.

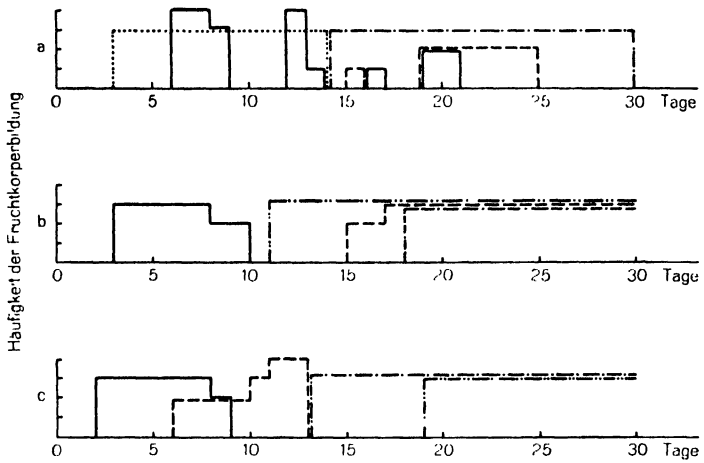


Abb. 2. Pilzfolge auf Kuhmistkulturen.
Zeichenerklärung usw. wie bei Abb. 1.

Für Mucorineenkulturen ist der Pferdemist dem Kuhmist vorzuziehen, dagegen erweist sich letzterer für die Gewinnung mancher Ascomyceten (Ascophanus carneus, Podospora-Arten, Humaria anceps) als vorteilhafter.

Temperaturerniedrigung auf 18 bzw. 14° bewirkte außer geringfügigen Verschiebungen innerhalb der Pilzfolge keine nennenswerte Veränderung des Gesamtbestandes. Auch die Ascomyceten fanden sich in der Regel bei allen aufgeführten Temperaturen; wo sie jedoch fehlten, konnten sie in gleicher Weise wie auf Pferdemist durch nachträgliche Einstellung des Temperaturoptimums, unabhängig vom bisherigen Verlauf der Sukzession oder der Gegenwart anderer Pilzarten, zum Vorschein gebracht werden.

3. Schafmistkulturen (Abb. 3).

Die schon angeführte Überlegenheit des Schafmistes prägt sich bei 25° deutlich aus. Der gesamte Vegetationsverlauf ist auf einen Zeitraum von 15—18 Tagen zusammengedrängt, die Häufigkeit der einzelnen Arten erreicht ihr Maximum. Die normale Pilzfolge ist durchaus gewahrt. Setzt man Schafmist der Temperatur des Kellers aus, so ergibt sich ein anderes Bild. Coprinus tritt in den Vordergrund, wohingegen die Ascomyceten meistens nur durch Podospora-Arten vertreten sind. Bei Zimmertemperatur erscheinen wiederum zahlreiche Ascomyceten, vielfach ebenso reichlich wie bei 25°, doch ist die Vegetationsperiode um einige Wochen länger.

Der Schafmist ist namentlich für Ascomycetenkulturen sehr brauchbar, bedarf aber infolge seiner Neigung zur Krustenbildung in erhöhtem Maße

einer ständigen Kontrolle des Feuchtigkeitszustandes. Da er im übrigen schwieriger zu beschaffen ist als Kuhmist, wird man diesem praktisch den Vorzug geben.

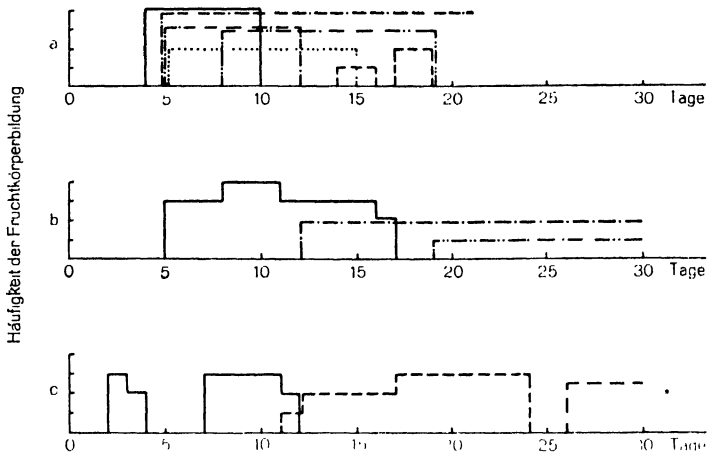


Abb. 3. Pilzfolge auf Schafmistkulturen.
Zeichenerklärung usw. wie bei Abb. 1.

4. Eselmistkulturen (Abb. 4).

wurden nur bei 18° angesetzt, da das Material viele Strohpartikel enthält und infolgedessen bei höherer Temperatur auch unter der Glasglocke — austrocknet. Der Eselmist war aber gerade wegen der Strohpartikel ein vorzüglicher Nährboden für Sordarien. Podospora pleiospora und Sordaria fimicola entwickelten sich auf dieser Unterlage in großen Mengen.

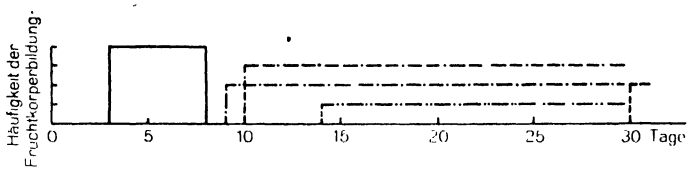


Abb. 4. Pilzfolge auf einer Eselmistkultur bei 18°.
Zeichenerklärung wie bei Abb. 1.

Die Pilzvegetation wurde durch Pilobolus oedipus eingeleitet, durch die Ascomyceten fortgesetzt und schloß mit Coprinus, so daß auch hier die normale Pilzfolge eingehalten wurde.

5. Allgemeines.

Bemerkenswerterweise wird die Reihenfolge der Fruktifikation: Mucorineen — Ascomyceten — Basidiomyceten, die nach dem Vorhergehenden auf Rohkulturen allgemein verbreitet ist, auch in räumlich getrennten Reinkulturen innegehalten. Beimpft man Mistdekokt-Agar oder künstliche Nährmedien mit keimenden Sporen verschiedener Koprophyten, so macht man die Beobachtung, daß die Mycelien der Mucorineen sich am schnellsten von

allen Arten entwickeln und zur Sporangienbildung schreiten. Dagegen findet man bei koprophilen Ascomyceten und Basidiomyceten eine erheblich längere Entwicklungsdauer, die, von der keimenden Spore bis zur beginnenden Fruchtkörperbildung gerechnet, 2—4 Wochen beträgt [Griffith (17) und eigene Beobachtungen]. Bei Sordarien und Ascoboleen ist ein sichtbares Mycel frühestens in 1—2 Tagen vorhanden, erreicht in 10—18 Tagen den Durchmesser der Petrischale (9 cm) und beginnt erst dann mit der Ausbildung der Fortpflanzungsorgane, die in 4—6 Tagen beendet ist. Wie folgende Übersicht zeigt, sind im einzelnen beträchtliche Abweichungen zu verzeichnen.

Es erreichten auf sterilem Mist bei 23° den Rand einer Petrischale (9 cm) vom Mittelpunkt aus (Tab. 4).

Tabelle 4.

Pilzart	nach Tagen	Fruktifikation nach Erreichung des Randes in weiteren Tagen
Sordaria fimicola	4	0
Pilobolus longipes, P. Kleinii	3	0
Podospora fimiseda	18	1
„ curvula var. coronata . .	10	1
„ minuta	10	1
„ setosa	14	1
Chaetomium Kunzeanum	10	2
Ascophanus carneus	9	0
Saccobolus Kerverni	14	2

Die Entwicklung der koprophilen Basidiomyceten endlich beansprucht volle 3—4 Wochen, so daß hinsichtlich der Dauer des Entwicklungszyklus die Basidiomyceten auf die Ascomyceten und diese auf die Mucorineen folgen.

Hiernach muß auf Grund des übereinstimmenden Verhaltens bei räumlicher Trennung der Mycelien einerseits und bei gemeinsamer Entwicklung andererseits geschlossen werden, daß das zeitliche Nacheinander der Fruktifikation auf Rohmistkulturen lediglich eine Folge der verschiedenen individuellen Entwicklungsgeschwindigkeit der beteiligten Arten ist und somit eine gegenseitige Beeinflussung der Fruchtkörperbildung im Cookschen Sinne nicht vorliegt. Der Schluß ist um so mehr berechtigt, als sich die optimalen Fruktifikationsbedingungen auch auf Rohkulturen, unabhängig von der jeweiligen Zusammensetzung der Pilzflora, jederzeit mit Erfolg reproduzieren ließen, sofern die betreffenden Mycelien bereits die Fruktifikationsfähigkeit erlangt hatten. Dies gilt nicht nur von der Temperatur als Außenfaktor, sondern, wie im nächsten Abschnitt ausgeführt werden soll, in erhöhtem Maße auch von dem Wassergehalt des Substrats.

Hinsichtlich des Wärmeanspruches der Pilze ergab sich ganz allgemein, daß Temperaturen über 18° direkt keinen wesentlich fördernden Einfluß auf die Pilzvegetation ausüben, indirekt dagegen insofern von allergrößter Bedeutung sind, als sie die Einstellung des günstigsten Wassergehaltes des Substrats beschleunigen. Hieraus, nicht aus der Temperaturdifferenz an sich, kann man erklären, daß der Prozentsatz gutgelungener Pilobolus-Kulturen auf Kuh- und Schafmist im Gewächshaus größer war als im Zimmer. Das gleiche gilt, wenn auch nicht in solch ausgeprägtem Maße, für die Ascoboleen-

flora. Bei den an sich trockenen Mistarten (Pferd, Hund, Ziege, Kaninchen, Meerschweinchen) bringt Temperaturerhöhung auf 25° keine Vorteile.

Bezüglich der Temperaturgrenzen der Fruktifikation ist folgendes zu bemerken: Während Mucorineen und Agaricineen innerhalb eines weiten Temperaturbereiches existenzfähig sind und zur Bildung der Fortpflanzungsorgane schreiten — Pilobolus oedipus-Sporangien wurden zwischen + 4° im Freien und + 35° im Gewächshaus beobachtet, Coprinus-Arten innerhalb eines annähernd gleichgroßen Intervalls — zerfallen die Ascomyceten in zwei Gruppen: 1. ausgesprochen thermophile Formen mit einem Temperaturoptimum von 25°. Zu ihnen gehört die Mehrzahl der Ascoboleen und Sordariaceen. 2. Kälteliebende Formen, zu denen Delitsch (10) Humaria anceps var. aurantiaca Delitsch und Lasiobolus pulcherrimus Cr., Verf. außerdem einige Sporormia-Arten (heptamera, intermedia, minima) und Ascobolus glaber rechnet, die im Winter bei Temperaturen zwischen + 5 und + 10° sporenbildend angetroffen wurden.

Für die thermophilen Formen gilt, wie gesagt, + 25° als Optimum, die Lage der beiden anderen Kardinalpunkte bewegt sich zwischen + 15 und + 29°. Für Ascophanus carneus werden + 16,5, + 25 und + 29° als Kardinalpunkte der Fruktifikation angegeben [Ternetz (40)]. Innerhalb dieses Bereiches ist somit das Zustandekommen der normalen Pilzfolge, soweit sie von der Temperatur beeinflußt wird, gewährleistet.

Die Imperfecten reihen sich in den geschilderten, normalen Verlauf der Sukzession wahllos ein. Meistens traten sie zu Beginn der Ascomycetenvegetation auf, vielfach jedoch erst mehrere Wochen später. Gesetzmäßigkeiten des Auftretens konnten bei den beobachteten Formen — es handelt sich im wesentlichen um Trichothecium-, Fusarium-, Stilbum-, Stysanus- und Oedocephalum-Arten — nicht aufgedeckt werden. Zimmertemperatur erwies sich als günstig, hohe Temperaturen schädlicher als tiefe. Der Feuchtigkeitszustand des Substrates übte auf die Conidienbildung der Trichothecium-Arten einen beträchtlichen Einfluß aus.

Für die Myxobakterien sind hohe Temperatur-Ansprüche (Optimum 28—30°) bekanntgeworden [Kofler (25)]. Myxococcus rubescens wurde vom Verf. aber auch bei 18° erhalten. Der Zeitpunkt des Auftretens richtet sich nach den Feuchtigkeitsverhältnissen (Kofler, a. a. O.). Auf den Kulturen des Verf.s traten die Myxobakterien meist nach Abschluß der Mucorineenflora auf.

6. Die Vertreter der einzelnen Pilzformationen auf den Kulturen des Verfassers.

Die Übersicht bringt eine Zusammenstellung der vom Verf. auf den verschiedenen Mistkulturen beobachteten Arten.

Abkürzungen: P = Pferdemist, R = Kuhmist, S = Schafmist, K = Kaninchenmist, Z = Ziegenmist, H = Hundemist, E = Eselmist, h = häufig, s = selten.

1. Myxomyceten.

Copromyxa protea Fay.:	h; P, R, S
Dictyostelium mucoroides Bref.:	s; K

2. Mucorineen.

Mucor racemosus Fres.:	h; P, K, S
Thamnidium elegans Link.:	P

Chaetocladium Jonesii Fres.:	s; P
Pilobolus crystallinus Tode:	h; P, R, S, K
Pilobolus Kleinii v. Tiegh.:	h; P, R, S, K
Pilobolus longipes v. Tiegh.:	h; P, R, S
Pilobolus oedipus Mont.:	P, R, S

3. Ascomyceten.

Ascobolus candidus Schr.:	s; S, K
Ascobolus glaber Pers.:	h; P, S
Ascobolus immersus Pers.:	h; P, R, S, K
Ascobolus stercorarius Bull.:	h; P, R, S, K
Ascophanus carneus Pers.:	h; P, R, S, K
Ascophanus lacteus Cooke:	s; R
Boudiera canina Cr.:	s; H
Chaetomium Kunzeanum Zopf:	s; P, R, S
Chaetomium murorum Corda:	s; K, S
Delitschia Auerswaldi Fuck.:	s; K, S
Lasiobolus equinus Müller:	h; P, S,
Lasiobolus pulcherrimus Cr.:	s; R, S
Podospora coprophila Fr.:	h; R, S
Podospora curvula de Bary	
var. coronata Winter:	h; P, R, S, K, Z, E
var. aloides Fuck.:	h; P, R, S
Podospora fimiseda Ces. et de Not.:	h; P, R, S
Podospora minuta Fuck.:	h; P, R, S, K
Podospora pleiospora Winter:	h; P, E, S
Podospora setosa Winter:	h; R, S, K
Rhyparobius crustaceus Fuck.:	s; K
Saccobolus depauperatus Boud.:	h; P, R, S, K
Saccobolus Kerverni Cr.:	h; P, R, S, K
Sordaria fimicola Ces.:	h; P, R, S, K, Z, E
Sporormia intermedia Auerswald:	h; P, S, K
Sporormia heptamera Auerswald:	h; K, S
Sporormia minima Auerswald:	h; R, S

4. Agaricineen.

Coprinus ephemeroides Bull.:	h; P, K, S
Coprinus ephemerus Fr.:	h; P, R, S
Coprinus lagopus Fr.	h; P, R, S
Coprinus stercorarius Bull.:	h; P, R, S
Panaeolus accuminatus Fr.:	h; P, R
Panaeolus campanulatus L.:	h; P, R, S
Panaeolus fimicola Fr.:	h; P, R
Stropharia stercoraria Fr.:	h; P, R

5. Imperfecten.

Coremium glaucum Link:	h; S, K
Fusarium roseum Link:	h; K, S
Oedocephalum glomerulosum Bull.:	h; P, R, E, S, K, Z
Stysanus fimetarius Karsten:	s; P, R, S, K
Stysanus Stemonitis Pers.:	h; P, S, K
Trichothecium candidum Link:	h; P, R, S, K
Trichothecium roseum Link:	h; P, R, S, K

Außerdem eine ganze Reihe nicht einwandfrei bestimmbarer Imperfecten.

B. 3. Der Wassergehalt des Substrates und sein Einfluß auf die Pilzfolge.

In Abschnitt 1 ist gelegentlich der Besprechung des Wassergehalts einzelner Mistarten bereits darauf hingewiesen worden, daß die Fruchtkörperbildung bei zu großer Feuchtigkeit des Substrats weitgehend hinausgezögert werden kann, und daher bei Verwendung von an sich zu feuchten Substraten für Wasserentzug zu sorgen ist. Es fragt sich, in welchem Maße

dieser Wasserentzug stattzufinden hat, damit das Mycel die günstigsten Feuchtigkeitsverhältnisse für die Fruktifikation vorfindet und wie weitgehend ein Substrat austrocknen kann, ohne das Wachstum des Mycels zu benachteiligen. Die experimentelle Behandlung dieser Fragen wurde durch eine von Ursprung und Blum (41) ausgearbeitete Methode zur Messung der Saugkräfte von Flüssigkeiten, Quellkörpern und Böden ermöglicht.

Die genannte Methode beruht im Prinzip auf der isothermen Destillation von Wasserdampf höheren Druckes nach Stellen tieferen Druckes. Es werden Kapillaren, die mit Rohrzuckerlosungen gefüllt sind, in luftdicht verschlossenen Gefäßen über der zu untersuchenden Susbtanz angebracht. Bei Aufnahme oder Abgabe von Wasser unter der Einwirkung der Substanz ändert sich die Länge der Flussigkeitssäule in den Kapillaren, was mit dem Mikroskop direkt meßbar ist. Diejenige Kapillare, in der sich die Flussigkeitsmenge nicht geändert hat, hat die gleiche Saugkraft wie das Substrat. Die Methode ist nach allen erdenklichen Richtungen hin einer genauen Prüfung unterzogen worden, so in bezug auf den Einfluß der Krümmung und der Randdistanz der Menisken, der Länge, Weite und thermischen Dimensionsänderungen der Kapillaren, ferner der Lagerung und Textur der festen Substanz. Fur Bodenuntersuchungen ist sie bereits von anderer Seite angewandt worden [Harder (20)] und hat sich hierbei besser bewahrt als das Hansen-Gradmannsche Papierhygrometer-Verfahren (zitiert nach Harder, l. c.).

Allgemeines über Wassergehalt und Saugkräfte verschiedener Fäces.

An Hand der geschilderten Methode wurde die Saugkraft einzelner Mistarten in frischem Zustande sowie im Stadium der beginnenden und abgeschlossenen Koprophytenvegetation bestimmt, wie nachfolgendes Beispiel zeigt:

Schafmistkultur, 26 Tage alt, mit Ascophanus carneus und Podospora fimiseda sowie einigen Imperfecten.

Temperatur 18°. Länge der Kapillaren 6 mm, innerer Durchmesser 0,3—0,4 mm.

Tab. 5. Bestimmung der Saugkraft des Substrates.

Rohrzuckerlosungen in den Kapillaren	Distanz der Menisken		Differenz
	anfangs	nach 48 Std.	
0,50 mol	44	49	+ 5
0,40 mol	56	60	+ 4
0,30 mol	57	59	+ 2
0,20 mol	68	68	± 0
0,10 mol	80	77	— 3
0,00 mol	66	61	— 5

Das Substrat steht mit 0,20 Mol. Rohrzucker im Gleichgewicht, seine Saugkraft beträgt rund 5 Atm.

Bei der Einstellung der Randdistanz der Menisken hat man zu berücksichtigen, daß die konzentrierten Lösungen Wasser kondensieren, die verdünntes Wasser abgeben sollen. Daher wählt man für jene Kapillaren eine größere Randdistanz als für diese. Wird dieses nicht beachtet, so treten die Lösungen im ersteren Falle aus den Kapillaren heraus, wodurch eine Ablesung unmöglich wird. Die verdünnten Lösungen stellen sich bei großer Randdistanz nur langsam ein.

Die Mistproben wurden in Ermangelung eines passenden Bodenbohrers mit dem Spatel herausgehoben, wobei jede Änderung der Textur nach Möglichkeit vermieden wurde. Die Saugkraft bohnenförmiger Mistballen, wie sie bei Schafen und Ziegen vorkommen, konnte nicht bestimmt werden.

Zunächst ist die Frage zu beantworten, ob man die Saugkraft umgekehrt proportional dem absoluten Wassergehalt setzen kann. Harder (20) hat für Wüstenböden gezeigt, daß die Saugkräfte nicht immer nur durch den hohen Salzgehalt hervorgerufen werden, sondern auch rein physikalisch bedingte Struktureigentümlichkeiten, die ihrerseits das Auftreten von Kapillar-, Adsorptions- und Quellungskräften verursachen, an der Gesamtsaugkraft beteiligt sind. Konnte bereits für diese relativ übersichtlichen Böden die obige Beziehung zwischen Saugkraft und absolutem Wassergehalt nicht immer herausgestellt werden, so gilt das in erhöhtem Maße für misthaltige Substanzen, wie folgende Tabelle zeigt.

Tab. 6. Saugkraft und absoluter Wassergehalt der Faces.

Pferdemist		Kuhmist		Schafmist	
Saugkraft in Atm.	Wassergehalt in %	Saugkraft in Atm.	Wassergehalt in %	Saugkraft in Atm.	Wassergehalt in %
2,3	61,7	1,6	78,8	2,3	72,5
2,7	31,0	3,1	44,5	3,2	32,0
3,5	15,4	5,0	22,0	4,5	15,3
8,2	9,0	10,4	11,9	11,3	7,3

Graphisch dargestellt, ergibt sich das nachstehende Bild (Abb. 5).

Der Anteil des kapillar gebundenen Wassers wird beim Übergang von 2 nach 4 Atm. rasch abgegeben. Dagegen wird das Quellungswasser mit großer Kraft zurückgehalten, so daß der Wassergehalt, zum mindesten bei Pferde- und Schafmist, im Bereich von 5—10 Atm. praktisch nahezu konstant bleibt.

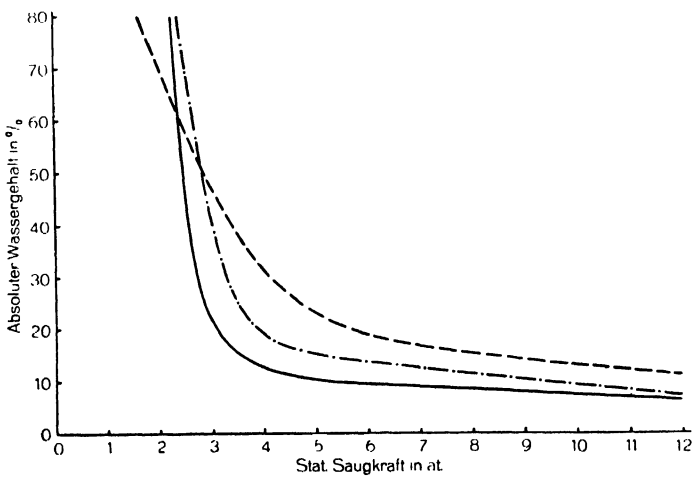


Abb. 5. Beziehung zwischen statischer Saugkraft und Wassergehalt verschiedener Fäzes.

——— Pferdemist — — — — Kuhmist — · — · — Schafmist

Der absolute Wassergehalt wurde durch Bestimmung des Gewichtsverlustes der bei 110° getrockneten Substanz ermittelt. Die Bestimmung des Wassergehaltes frischen Mistes ergab folgende Durchschnittswerte:

Für Pferdemist 61%, für Kuhmist 68%, für Schafmist 49%, für Ziegenmist 52%, für Schweinemist 78%.

Die Temperatur beeinflußt in Gemeinschaft mit der relativen Dampfspannung der umgebenden Luft die Saugkraft des Substrates innerhalb gewisser Grenzen durch Wasserentzug. Wurde Kuhmist in den zur Saugkraftmessung (s. o.) verwandten Gefäßen, mit einer Glasplatte bedeckt, 5 Tage lang einer gleichmäßigen Temperatur von 35° ausgesetzt, so stieg die Saugkraft der Oberfläche von 1,0 auf 10,2 Atm., die der Mitte auf 4,5 Atm. Bei Schafmist stieg die Saugkraft unter den gleichen Umständen von 3,2 auf 6,8 Atm., ein Zeichen, daß der an sich trockene Schafmist das Wasser stärker festhält als der wasserdurchtränkte Kuhmist. Pferdemist von 2 Atm. Saugkraft stieg bei Zimmertemperatur und 80% relativer Luftfeuchtigkeit in 14 Tagen auf 3,4 Atm., desgl. Ziegenmist. Die Saugkraft von Kuhmist stieg bei 16° und 83% Luftfeuchtigkeit in 14 Tagen auf 3,3 Atm., in 4 Wochen auf 4,0 Atm. Bei 25° stieg die Saugkraft in 8 Tagen auf 9,0, in 3 Tagen auf 7,9 Atm. Bei 30° betrug die Saugkraft der Oberfläche nach 8 Tagen 10,2 Atm., die der Mitte 4,5 Atm., ein Zeichen, daß sich Krusten gebildet hatten. Bei Schafmist blieb die anfängliche Saugkraft von 3,0 Atm. bei 16° und 83% Luftfeuchtigkeit innerhalb von 4 Wochen nahezu konstant. Bei 25° stieg die Saugkraft in 8 Tagen auf 6,8 Atm. in 3 Tagen auf 4,5 Atm. Bei 30° betrug die Saugkraft der Oberfläche nach 14 Tagen 11,3, die der Mitte 3,4 Atm. Ziegenmist wies ähnliche Saugkraftsteigerungen wie Schafmist auf. Pferdemist stieg bei 16° und 83% Luftfeuchtigkeit in 14 Tagen auf 3,4, in 4 Wochen auf 4,5 Atm. Bei 25° stieg die Saugkraft im Verlauf von 3 Tagen auf 7,9, in 8 Tagen auf 11,3 Atm. Bei 30° stieg die Saugkraft in 8 Tagen oberflächlich auf 12,4 Atm., im Inneren auf 5,0 Atm.

Diese zunächst unwesentlich erscheinenden Beobachtungen gewinnen sofort die allergrößte Bedeutung, wenn man den Einfluß der Saugkraft auf die Koprophytenvegetation in den Bereich der Untersuchungen zieht. Hat man beispielsweise experimentell für einen bestimmten Pilz ein engumgrenztes Saugkraft-Optimum von 5 Atm. ermittelt, so wird man bei Verwendung von frischem Schafmist (3 Atm.) in 3 Tagen die erforderliche Saugkraft eingestellt haben, wenn man die Kultur während dieser Zeit einer Temperatur von 25° aussetzt. Beabsichtigt man jedoch, dasselbe mit einer Temperatur von 16° zu erreichen, so wird man Wochen und Monate auf die Einstellung des Optimums und damit auch auf den Pilz warten müssen.

Würde man andererseits eine Kuhmistkultur zur Herstellung des Saugkraft-Optimums in gleicher Weise behandeln wie eine Schafmistkultur, so würde man die gewünschte Saugkraft um 3 Atm. überschritten und damit das baldige Auftreten des Pilzes vereitelt haben. Im Falle einer Krustenbildung könnte man mit dem Erscheinen der Fruchtkörper auf dieser Kultur überhaupt nicht mehr rechnen.

Die relative Feuchtigkeit der umgebenden Luft beeinflußt die Saugkraft des Substrates wesentlich nur auf der Oberfläche, indem sich ihre Saugkraft mit der relativen Dampfspannung der Luft ins Gleichgewicht setzt. Eine tiefergehende Einwirkung konnte nicht festgestellt werden. Bei 83% Luftfeuchtigkeit war die Oberflächensaugkraft einer Kuhmistkultur um eine Atmosphäre größer als die der Mitte. Einwirkungen einer erhöhten Luft-

trockenheit entzieht sich das Substrat sofort durch Bildung einer festen Kruste, was auch bei zu schneller Erhöhung der Temperatur geschieht. Ein derartig mit einer Kruste überzogenes Substrat ist für Kulturzwecke nicht zu gebrauchen. Praktisch erzielt man daher die richtige Saugkraft durch vorsichtige Temperaturerhöhung, die sich auf mehrere Stunden zu erstrecken hat.

Die Bedeutung der Saugkraft für die Fruchtkörperbildung der Koprophyten.

In den folgenden Ausführungen soll die Frage beantwortet werden, ob sich für die koprophile Pilzflora ein bestimmtes Saugkraft-Optimum angeben läßt und ob dieses bei den untersuchten Arten das gleiche ist oder wechselt. Es wurden zu diesem Zweck 3 Serien von je 6 Kulturen Pferde-, Kuh- und Schafmist angesetzt und durch Erwärmen im Thermostaten auf verschiedene Saugkräfte (1, 2, 5, 7, 9 und 11 Atm.) eingestellt. Nach der Einstellung wurde die Saugkraft gemessen, in Intervallen von 8—10 Tagen geprüft und nach Möglichkeit konstant gehalten. Die Kulturen befanden sich im Gewächshaus bei 20—25°. Für eine ausreichende Luftfeuchtigkeit wurde durch Aufgeben von Wasser auf das Fließpapier innerhalb der Glasglocke gesorgt und die Kulturen im übrigen so behandelt, wie es den günstigsten Fruktifikationsbedingungen entspricht.

Die Ergebnisse der drei Versuchsreihen.

Vorbemerkung: 1. Die gleiche Feuchtigkeit auf der gesamten Kulturfläche herzustellen, ist praktisch unmöglich. Hierdurch ist die Möglichkeit einer falschen Beurteilung der Vegetationsverhältnisse in bezug auf die Wirkung der Saugkraft nicht ausgeschlossen.

2. Es ist unmöglich, bei Verwendung von Rohkulturen das Zufallsmoment gänzlich auszuschalten. Deshalb wurden die Ergebnisse dieser Versuchsreihen an anderen, nicht zu diesem Zweck angesetzten Rohkulturen nachgeprüft. Insgesamt wurden etwa 70 Kulturen der Saugkraftmessung unterzogen.

Die Ergebnisse der drei Versuchsreihen, die nach 4 Wochen abgeschlossen wurden, sind folgende:

1. Pferdemist (Abb. 6). Bei 10—12 Atm. war auf dem mit einer festen Kruste überzogenen Substrat in den ersten 14 Tagen nichts aufgetreten. Nur an einer Stelle erschien eine Schar Conidienträger von Trichothecium candidum. Nach 14 Tagen erschienen vereinzelt kleine Hüte von Coprinus stercorarius, deren Zahl sich in 5 Tagen etwas vergrößerte. 5 Tage später vertrockneten sie. 2 Tage vorher erschienen 10—20 Apothecien von Ascophanus carneus, aber nicht auf dem Substrat, sondern auf dem Fließpapier. Die Apothecien hielten sich etwa eine Woche und vertrockneten dann. Reife Sporen konnten nicht gefunden werden.

Bei 9 Atm. trat Coprinus stercorarius bereits erheblich früher und reichlicher auf, auch waren die Fruchtkörper größer. Ferner erschien nach 3 Wochen Sordaria fimicola, nicht sehr reichlich, besonders auf Strohpartikeln. Endlich wurden an einer Stelle, die feuchter zu sein schien, Pilobolus longipes-Sporangien entdeckt, die aber nach 2 Tagen verschwanden und nicht wiederkehrten.

Bei 7 Atm. setzte plötzlich die Pilobolus-Sporangienbildung ein, die bei 5 Atm. ihr Maximum erreichte. Außerdem traten verstreut Saccobolus depauperatus und Ascobolus immersus auf, sowie Sordaria und Coprinus stercorarius. Letzterer sistierte die Fruchtkörperbildung zu derselben Zeit wie bei 11 Atm., während die überständigen Perithecien von Sordaria sich noch wochenlang hielten. Die Sporenaussaat wurde bei letzterer nicht zu Ende geführt, es fanden sich in den alten Fruchtkörpern noch 4 Wochen später Schläuche mit reifen Sporen.

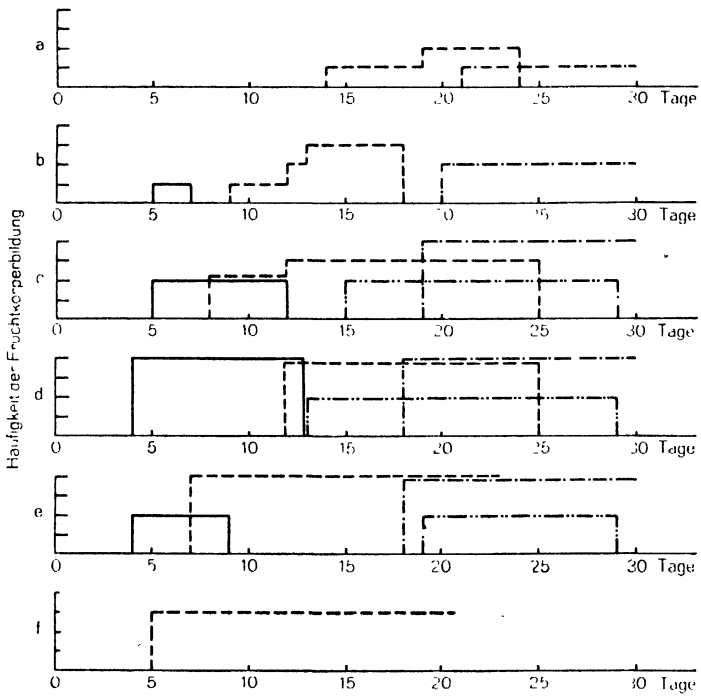


Abb. 6. Pilzfolge auf Pferdemistkulturen in Abhängigkeit von der Saugkraft.

Zeichenerklärung: ———— Pilobolus spec.
— — — — Coprinus spec.
— — · — — Ascophanus spec.
— · — · — · — Podospora spec.
— · · — · · — Saccobolus spec.

a = Pilzfolge bei 11 Atm.; b = Pilzfolge bei 9 Atm.; c = Pilzfolge bei 7 Atm.; d = Pilzfolge bei 5 Atm.; e = Pilzfolge bei 2 Atm.; f = Pilzfolge bei 1 Atm.

Kulturen von 5 Atm. waren nach 4 Tagen mit einem dichten Wald von Pilobolus longipes-Trägern überzogen, die die bekannte 24-Std.-Periode 9 Tage lang innehielten. Ferner waren Sordaria, Saccobolus depauperatus und Coprinus-Arten vertreten, Ascobolus immersus wurde vermißt.

Bei 2 Atm. trat Pilobolus longipes wieder zurück. Coprinus und Sordaria fimicola traten nach wie vor massenhaft auf, auch einige Exemplare von Saccobolus depauperatus erschienen.

Bei 1 Atm. war das Substrat bereits so feucht, daß sich überall auf der

Oberfläche zwischen den Partikeln Wasserhäutchen bildeten. Coprinus war der einzige Vertreter dieser Kultur, an Zahl weit geringer als sonst.

Zusammenfassend kann man sagen, daß auf Pferdemistkulturen das Pilobolus-Optimum bei 5 Atm., das Ascomyceten-Optimum zwischen 5 und 7 Atm. liegt, während Coprinus zwischen 2 und 7 Atm. gedeihen kann.

2. Kuhmist (Abb. 7). Kulturen von 10—11 Atm. brachten nach 8—12 Tagen Coprinus in geringer Menge und nach 14 Tagen Ascophanus carneus gleichfalls in geringer Zahl hervor. Sie stimmten also vollständig mit den entsprechenden Pferdemistkulturen überein. Bei 9 Atm. änderte sich das Bild nur unwesentlich insofern, als einmal 2 Fruchtkörper von Ascobolus sterc. und einzelne Pilobolus Kleinii-Träger erschienen, die sich einige Tage hielten.

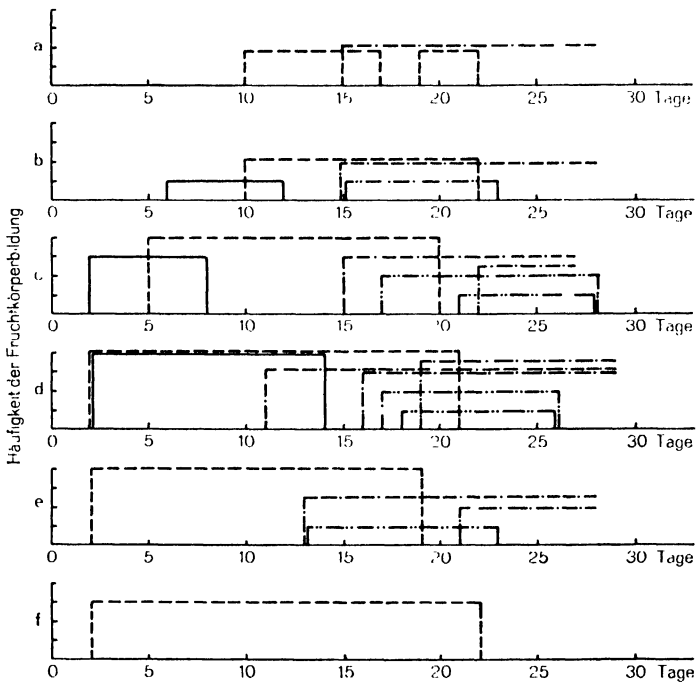


Abb. 7. Pilzfolge auf Kuhmistkulturen in Abhängigkeit von der Saugkraft.

Zeichenerklärung: ———— Pilobolus spec.
— — — — Coprinus spec.
— — · — — Ascophanus spec.
— · · — · · Ascobolus spec.
— · — · — Podospora spec.

a = Pilzfolge bei 11 Atm.; b = Pilzfolge bei 9 Atm.; c = Pilzfolge bei 7 Atm.; d = Pilzfolge bei 5 Atm.; e = Pilzfolge bei 2 Atm.; f = Pilzfolge bei 1 Atm.

Ein ganz anderes Bild ergab sich auf Kulturen von 7 Atm. In 2 Tagen erschien Pilobolus Kleinii, nicht sehr reichlich, und in weiteren 3 Tagen massenhaft Coprinus, zuerst in Form weißer Myzelflöckchen. 4 Tage vor dem Abschluß der Coprinus-Vegetation trat Ascophanus carneus auf, ferner erschienen Apothecien von Ascobolus sterc.,

Saccobolus Kerv. und schließlich Perithecien von Podospora fimis. in dichten Scharen.

Erniedrigung der Saugkraft auf 5 Atm. brachte keinen Vorteil für die Ascomyceten. Dagegen fand Pilobolus Kleinii erst bei dieser Saugkraft sein Optimum.

Bei 2 Atm. wurde dieser Pilz stets vermißt, außerdem auch Saccobolus Kerv. Bei 1 Atm. wurde nur noch Coprinus mit Sklerotien beobachtet.

Auch bei den Kulturen dieser Serie liegt das Pilobolus-Optimum bei 5 Atm. Saugkraft, das der Ascomyceten bei 5—7 Atm., das Vorkommen von Coprinus zwischen 1 und 17 Atm.

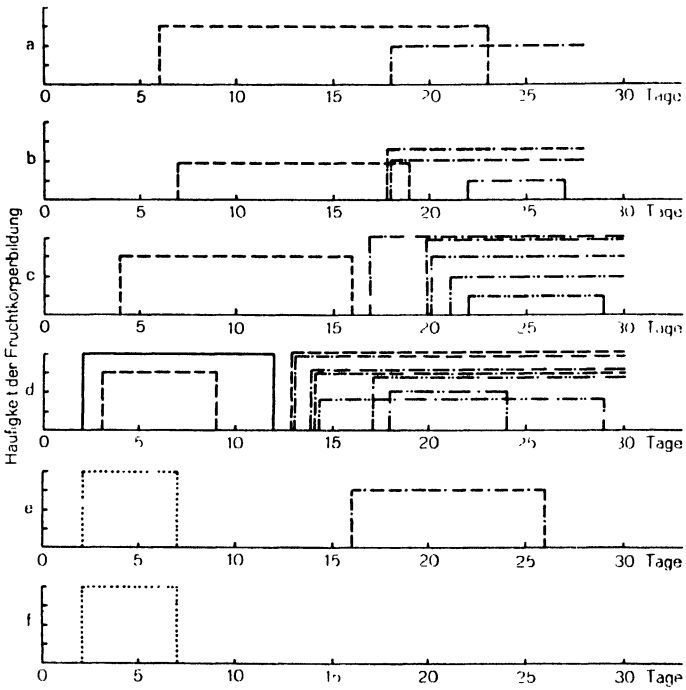


Abb. 8. Pilzfolge auf Schafmistkulturen in Abhängigkeit von der Saugkraft.

Zeichenerklärung: ——— Pilobolus spec.
— — — — Coprinus spec.
— — · — — Ascophanus spec.
- - - - - - Podospora spec.
— · · — · · — Ascobolus spec.
..... Copromyxa spec.

a = Pilzfolge bei 11 Atm.; b = Pilzfolge bei 9 Atm.; c = Pilzfolge bei 7 Atm.; d = Pilzfolge bei 5 Atm.; e = Pilzfolge bei 2 Atm.; f = Pilzfolge bei 1 Atm.

3. Schafmist (Abb. 8). Auf Kulturen von 10—12 Atm. Saugkraft trat Coprinus sterc. in einigen Fällen zahlreich auf, außerdem auch gelegentlich Ascophanus carneus. Es steht jedoch nicht fest, ob in den kleinen Partien, die von Ascophanus besiedelt wurden, wirklich die genannte hohe Saugkraft herrschte. Bei 9 Atm. stellte sich

Ascophanus stets ein. Außerdem wiesen die Kulturen Ascobolus sterc. in ganz wenigen Exemplaren, und Podospora fimis. auf, deren Optimum 2—4 Atm. tiefer liegt.

Bei 7 Atm. waren die Ascomyceten stets reichlich vorhanden, die größte Abundanz wurde bei 5 Atm. erreicht. Hier trat auch zum ersten Male Pilobolus Kleinii auf.

2 Atm. reichten für eine Ascomyceten-Kultur nicht aus, dagegen findet man hier wie bei 1 Atm. Copromyxa protea in großen Mengen, stets aber nur in den ersten Tagen nach dem Ansetzen. Später tritt der Myxomycet trotz günstiger Feuchtigkeitsverhältnisse nicht auf. Für das Fehlen der Copromyxa auf den übrigen Kulturen von 1—2 Atm. Saugkraft konnte kein Grund angegeben werden.

Das Pilobolus-Optimum liegt demnach für Schafmist wieder bei 5 Atm. Saugkraft, das der Ascomyceten zwischen 5 und 7 Atm. und das von Coprinus zwischen 4 und 7 Atm.

Um die erhaltenen Resultate einer Nachprüfung zu unterziehen, wurden Kulturen, die nicht speziell für diesen Zweck angesetzt worden waren, insbesondere solche, die eine ausgeprägte Pilzfolge aufzuweisen hatten, einer Saugkraftbestimmung unterzogen. Die in dieser Richtung angestellten Untersuchungen bestätigten die gewonnenen Resultate. Es wurde die Saugkraft einer Anzahl von Kulturen gemessen, die jeweilige Pilzflora festgestellt und das Ergebnis, gesondert nach Mistarten, prozentual ausgedrückt. Pilobolus erschien auf Pferde-, Kuh- und Schafmist-Kulturen zu 100% bei 4—5 Atm. Saugkraft, zu 11% bei 7 Atm. und 1 %bei 2 Atm. Auf Pferdemist erschienen Ascomyceten bei 5 Atm. zu 90%, bei 7—9 Atm. zu 40% und bei 2 Atm. zu 10%, auf Kuhmist bei 5—6 Atm. zu 100%, bei 7—9 Atm. zu 15% und bei 2—4 Atm. zu 10%. Auf Schafmist erschienen sie bei 5 Atm. zu 100%, bei 7—9 Atm. zu 20% und bei 2—4 Atm. zu 10%.

Coprinus erschien auf den genannten Mistarten zwischen 4 und 8 Atm. regelmäßig, seltener (10%) bei 2—3 Atm., am wenigsten (2%) bei 8—12 Atm.

Diese Zahlen bilden bereits, wenn auch nur in groben Zügen, eine Bestätigung der durch die Serienversuche gewonnenen Ergebnisse, die sicherste Stütze ist jedoch in dem folgenden Versuch zu erblicken:

Ein frischer Schafmisthaufen wurde durch 17tägige Einwirkung einer Temperatur von 35° mit einer festen Kruste überzogen, deren Saugkraft schließlich 12 Atm. betrug. Hierauf wurde das Substrat mit dem Deckel einer großen Petri-Schale bedeckt und auf die Unterseite des Deckels ständig so viel Wasser gegeben, daß es tropfenweise auf die Mitte des Misthaufens herunterfiel. Nach 1 Woche hatte sich an dieser Stelle die Kruste aufgelöst, worauf das Wasser den Mist gleichmäßig nach allen Richtungen durchzog und ein konzentrisch die Mitte umgebendes Saugkraftgefälle erzeugte. Die 2 Tage darauf erscheinenden Piloboli ordneten sich kreisförmig auf derjenigen Zone an, die ihrem Saugkraftoptimum (5 Atm.) entsprach, desgleichen die später auftretenden Ascomyceten: Saccobolus Kerv., Ascobolus sterc., sowie Ascophanus carneus. Die Mitte und der Rand der Kultur, welch letzterer noch eine hohe Saugkraft aufwies, blieben von den Pilzen verschont. Erst als nach weiteren 6 Tagen die Zugabe von Wasser eingestellt wurde, breiteten sich die Piloboli über die Mitte aus.

Der Versuch lehrt gleichzeitig, daß der Zeitpunkt der Sporangienbildung unter den obwaltenden Bedingungen lediglich vom Wassergehalt des

Substrates abhängig ist. Dieser bestimmt mit gewissen Einschränkungen auch den zeitlichen Eintritt der Ascomyceten-Fruktifikation.

Für Coprinus müssen anderweitige Faktoren, die vielleicht im Chemismus des Substrates begründet sind [vgl. Kniep (24)] geltend gemacht werden. Ein Saugkraftoptimum läßt sich für die beobachteten Coprinus-Arten (sterc., lagopus, ephem. und ephemeroides) nicht nachweisen.

Zur übersichtlichen, graphischen Darstellung der geschilderten Zusammenhänge ist auf der Abszisse eines rechtwinkligen Koordinatensystems die Saugkraft in Atmosphären, auf der Ordinate die Zahl der Sporangien bzw. Fruchtkörper auf Kulturen von 9 cm Durchmesser aufgetragen (Abb. 9). Diese Kurven sollen lediglich die Lage der Kardinalpunkte demonstrieren und erheben an ihren Enden keinen Anspruch auf absolute Genauigkeit. Ferner würden die Kurven unter Berücksichtigung der Mistart variieren, indem beispielsweise für Schafmist die Ascomycetenlinien auf der feuchten Seite stärker abfallen würden als auf der trockenen, was aus den betreffenden Diagrammen ohne weiteres hervorgeht.

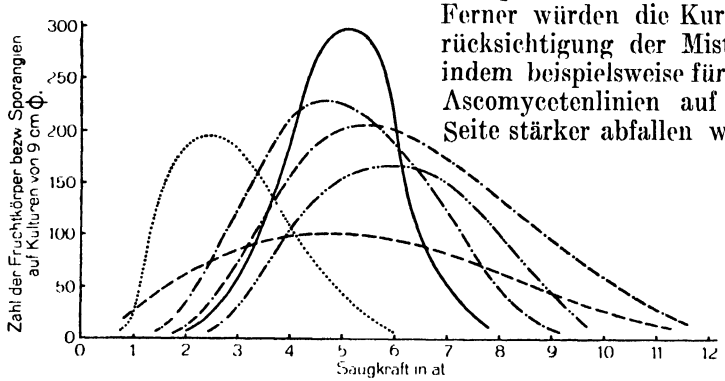


Abb. 9.
Saugkraft des Substrates und Fruchtkörperbildung.
– – – – – Pilobolus spec. — — — — Coprinus spec.
— — · — — · Ascophanus spec. — · — · — Podospora spec.
— · · — · · Ascobolus spec. ..... Copromyxa spec.

Für Pilobolus ödipus ist der Bereich des Optimums der Saugkraft größer als für die übrigen Piloboli. Es muß bemerkt werden, daß für einzelne Arten der Einfluß der Saugkraft noch nicht mit Sicherheit ermittelt werden konnte. Dies gilt besonders für Ascobolus immersus, der auf Rohkulturen viel zu sporadisch auftrat, um ein sicheres Bild von seinen Kulturbedingungen zu erlangen. Auch über Boudiera hyperb., die nur einmal auf Hundemist auftrat, können diesbezügliche Angaben nicht gemacht werden. Für die Sordarien ist nur eine Kurve, diejenige von Podospora fimiseda, angegeben.

Aus dieser graphischen Darstellung ergibt sich mit Deutlichkeit, daß das Saugkraftoptimum für die meisten koprophilen Pilze zwischen 5 und 7 Atm. liegt. Eine Ausnahme bildet der Myxomycet Copromyxa protea.

Charakteristisch ist das steile Optimum des Pilobolus, das dem Werte nach dem der Ascomyceten entspricht. Kofler (25) bezeichnet Pilobolus als Indikator für den günstigsten Feuchtigkeitsgrad der zwecks Gewinnung von Myxobakterien angesetzten Rohkulturen. Hiernach liegt auch für diese Organismen das Saugkraftoptimum an der für die übrigen Koprophyten geltenden Stelle.

B. 4. Die Reaktion des Substrates in Beziehung zur Pilzfolge.

Wieweit die Angabe, daß die koprophilen Pilze — gemeint sind offenbar nur die obligatorischen Formen — als neutrophile Organismen zu bezeichnen sind [Brefeld (7), Pringsheim (32)] zutreffend ist, wird erst die genaue Bestimmung des Aziditätsoptimums erweisen. Hier ist die Frage einer Prüfung zu unterziehen, ob eine gesetzmäßige Änderung des p_H im Laufe der Aufarbeitung des Substrates durch die Mikroorganismen besteht, die mit der Pilzfolge in Verbindung gebracht werden könnte.

Zur Methodik der p_H-Bestimmung ist folgendes zu bemerken: Die Substanz wurde mit der gleichen Gewichtsmenge doppelt destillierten Wassers übergossen, umgerührt, 24 Std. bei Zimmertemperatur stehen gelassen, hierauf dekantiert, zentrifugiert und die trübe, braungefarbte Flussigkeit der elektrometrischen Messung unterzogen. Es wurden stets zwei Elektroden — U-formige Wasserstoff-Elektroden nach Michaelis — mit der nämlichen Flussigkeit gefüllt und zur Messung verwandt. Zum Ausspulen der Glas- und Zentrifugengerate — Jenaer Glas — diente nur doppelt destilliertes Wasser, das nach 3 Tagen erneuert wurde.

Die Aziditätsverhältnisse im allgemeinen. Schwankungen der p_H-Werte und Grad der Pufferung.

Die Bestimmung der Reaktion frischer Fäzes ergab folgende Werte: Der p_H schwankt bei Pferdemist zwischen 7,18 und 7,58, bei Kuhmist zwischen 5,65 und 7,58, bei Schafmist zwischen 7,10 und 8,21, bei Schweinemist zwischen 7,63 und 8,44. Sämtliche untersuchten Mistarten sind somit in der Regel als schwach alkalisch zu bezeichnen. p_H-Werte unter 7,0 wurden nur zweimal bei Kuhmist (5,65 und 5,71) gemessen.

In verschiedenen Teilen desselben Mistballens treten Differenzen von einigen Zehnteln Zehner-Potenzen auf. Insbesondere ist die Oberfläche gewöhnlich um 0,3—0,5 p_H alkalischer als die Mitte.

Tab. 7. p_H-Werte der Fäzes bei verschiedenen Verdunnungen.

Extrakt : Wasser	pH 1. Elektrode	pH 2. Elektrode	Extrakt : Wasser	pH 1. Elektrode	pH 2. Elektrode
Pferdemist			Kuhmist		
1 : 0,25	7,32	7,30	1 : 0,25	7,23	7,23
1 : 0,50	7,27	7,20	1 : 0,50	7,16	7,13
1 : 1,00	7,37	7,34	1 : 1,0	7,03	7,04
1 : 2,0	7,35	7,35	1 : 1,5	7,23	7,23
1 : 3,0	7,39	7,37	1 : 2,0	7,20	7,16
1 : 4,0	7,27	7,34	1 : 3,0	7,37	7,25
1 : 5,0	7,34	7,34	1 : 4,0	7,04	7,13
1 : 6,0	7,34	7,34	1 : 5,0	7,25	7,25
1 : 7,0	7,27	7,34	1 : 6,0	7,25	7,25
			1 : 7,0	7,23	7,22
Schafmist			Ziegenmist		
1 : 0,25	7,94	7,94	1 : 1,0	7,99	7,99
1 : 0,50	8,01	8,01	1 : 1,5	7,99	8,02
1 : 1,0	8,06	8,02	1 : 2,0	8,11	8,16
1 : 1,5	8,02	8,08	1 : 4,0	8,11	8,04
1 : 2,0	8,08	8,08	1 : 5,0	8,16	8,11
1 : 3,0	8,06	8,06	1 : 6,0	8,16	8,11
1 : 4,0	8,01	8,08	1 : 7,0	8,04	8,09
1 : 5,0	8,08	—			
1 : 6,0	8,09	8,09			
1 : 7,0	8,08	8,08			

Vergrößert man die Menge des zur Extraktion bestimmten Wassers oder verdünnt man das gewonnene Extrakt um ein Vielfaches, so ergibt sich keine Änderung des p_H. Die Pufferung des Mistes ist eine weitgehende. In nachfolgender Tabelle 7 sind die ermittelten p_H-Werte verschieden starker Verdünnungen des Extraktes angegeben.

Die nämlichen Resultate ergaben sich, wenn zur Extraktion verschiedene Wassermengen benutzt wurden. Erst bei 20facher Gewichtsmenge des Wassers stieg der ph um einige Zehntel an.

Pilzvegetation und p_H.

Tabelle 8 zeigt die Schwankungen der p_H-Werte verschiedener Rohkulturen im Laufe der ersten 6 Tage unter normalen Kulturbedingungen.

Tab. 8. Schwankungen der p_H-Werte im Laufe der ersten 6 Tage.

Tage	Pferde-mist	Kuh-mist	Schaf-mist	Ziegen-mist	Schweine-mist
0	7,48	7,50	7,18	8,24	7,63
1	7,50	7,50	7,18	8,24	7,63
2	7,50	7,50	7,71	8,70	7,50
3	7,53	7,58	7,50	8,84	7,77
4	7,52	7,58	7,59	8,84	7,51
5	7,88	7,91	7,58	8,88	8,44
6	7,92	—	—	—	—

Tabelle 9 zeigt die Schwankungen der p_H-Werte im Laufe der Kulturperiode.

Tab. 9. Schwankungen der p_H-Werte im Laufe von 4 Wochen.

1 Zeit	2 Pferde-Mist	3 Kuh-Mist	4 Schaf-Mist	5 Pilze	6 Ziegen-Mist	7 Pilze	8 Schweine-Mist
Frisch	7,48	7,51	7,10	a	7,40	—	7,63
nach 1 Woche	7,92	7,95	7,58	b	8,80	—	8,44
„ 2 Wochen	7,92	8,06	8,39	b, c	8,71	c	7,90
„ 3 „	7,92	7,84	7,95	c, d	8,40	c, d	7,90
„ 4 „	7,95	—	—	c, d	—	c, d	—

Anmerkung: In Spalte 5 und 7 bedeuten: a = Copromyxa protea, b = Pilobolus spec., c = Ascophanus carneus und Saccobolus Kerverni, d = Coprinus.

Tab. 10. p_H-Werte von Rohkulturen mit und ohne Pilzflora.

a) Mit Ascophanus und Podospora		Ohne Ascophanus und Podospora	
Kuhmist	Schafmist	Kuhmist	Schafmist
7,06	7,96	7,84	**8,40**
7,50	7,89	**8,06**	8,31
7,89	7,40	7,91	7,58
7,40	**7,10**	7,58	8,21
7,10	8,21	7,50	7,23
7,23	7,23	**5,71**	**7,10**
8,40	**8,40**	7,41	7,40
Durchschnitt: 7,51	7,74	7,44	7,74

b) Ziegenmist: Mit Ascophanus 8,88.
Ziegenmist: Ohne Ascophanus 8,71.

c)	Mit Pilobolus Kleinii		Ohne Pilobolus Kleinii	
	Kuhmist	Schafmist	Kuhmist	Schafmist
	7,91	8,21	7,84	7,21
	7,58	**7,40**	7,91	**8,40**
	7,06	7,50	**8,06**	7,50
	8,21	7,71	8,06	7,23
	7,58	**8,40**	**5,65**	**7,10**
Durchschnitt:	7,67	7,84	7,50	7,49

d) Schafmist		e) Pferdemist	
Mit	Ohne	Mit	Ohne
Saccobolus Kerverni		Copromyxa protea	
8,40	**8,21**	7,53	7,92
7,54	7,23	**7,18**	**7,06**
7,58	**7,10**	**7,46**	7,88
8,40	8,04	7,58	**8,24**
Durchschnitt: 7,73	7,65	7,44	7,77

Um die Beziehungen zwischen Pilzvegetation und p_H genauer zu prüfen, wurden p_H-Werte von Rohkulturen mit und ohne Saprophytenvegetation gemessen. Tabelle 10 bringt eine Gegenüberstellung der gefundenen Werte.

Hiernach unterliegt die aktuelle Azidität der frischen und in Zersetzung befindlichen Fäzes zeitlich nur geringfügigen Schwankungen, eine Feststellung, die mit dem oben angeführten bedeutenden Pufferungsvermögen dieser Substanzen in Einklang steht. Infolgedessen kann eine tiefergreifende Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration auf das Ausmaß und die Reihenfolge der Fruktifikation bei normalem, ungestörtem Ablauf des Zersetzungsprozesses von vornherein nicht erwartet werden. Die Tabellen bringen diesen Tatbestand deutlich zum Ausdruck.

Versuche, die in geringem Umfange mit künstlicher Ansäuerung bzw. Alkalisierung des Mistes ausgeführt wurden, haben keine brauchbaren Resultate gezeitigt.

B. 5. Der Einfluß des Lichtes.

Die Bedeutung des Lichtes für die Anlage und normale Ausbildung der Fortpflanzungsorgane koprophiler Pilze bildet den Gegenstand zahlreicher Abhandlungen, die sich hauptsächlich mit den Vergeilungserscheinungen befassen [Brefeld (7), Gräntz (15), Lakon (26), Schenck (36)]. Lichtabhängigkeit der Fruchtkörperbildung ist für Ascophanus carneus [Ternetz (40)], Ascobolus magnificus [Dodge (11)], Lasiobolus pulcherrimus [Delitsch (10)], Ascobolus immersus und Thelebolus stercoreus [Ramlow (33)] festgestellt worden.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung steht zunächst die Frage zur Erörterung, ob das Licht den Zeitpunkt des Eintritts der Fruktifikation beeinflußt. Dunkelversuche mit Rohkulturen ergaben für die notorisch

lichtunabhängigen Arten keine zeitliche Verschiebung der Fruchtkörperbildung. Es traten zum gewohnten Zeitpunkt auf: verschiedene Mucor-Arten, Pilobolus Kleinii und crystallinus, Copromyxa protea, Dictyostelium mucoroides, Ascobolus candidus, A. glaber, A. stercorarius, A. immersus, Chaetomium murorum, Sordaria fimicola, Podospora fimiseda, P. curvula (beide Varietäten), P. pleiospora, P. setosa, P. minuta, P. coprophila, Delitschia Auerswaldi, Sporormia intermedia, Sp. minima, Sp. heptamera, Oedocephalum glomerulosum, Stysanus Stemonitis, Trichothecium roseum, Tr. candidum, Fusarium species. Auch Reinkulturen führten zum gleichen Ergebnis. Lediglich die Fruchtkörperbildung von Ascophanus carneus erfuhr im Dunkeln eine erhebliche Verzögerung von 10—30 Tagen, keineswegs, wie Ternetz (40) angibt, eine gänzliche Behinderung. Der Prozentsatz der fertilen Dunkelkulturen dieser Spezies schwankte zwischen 1 und 20, desgleichen die Zahl der in den einzelnen Kulturen gebildeten Fruchtkörper. Die Schläuche gelangten stets zur Reife. Auf Rohdunkelkulturen wurde die Art indessen niemals angetroffen.

Die relativ weitgehende Lichtabhängigkeit der Fruchtkörperbildung von Ascophanus carneus veranlaßte Ternetz (40), die Wirkung verschiedener Spektralbezirke des sichtbaren Gebietes auf die Fruktifikation zu prüfen. Die von der Autorin benutzten Farblösungen lassen jedoch eine nur unvollkommene Aufteilung des Spektrums zu, auch kann die Forderung der Energiegleichheit des auf das Myzel auftreffenden Lichtes in ihren Versuchen nicht als erfüllt angesehen werden. Verf. unterzog daher die Frage mit den inzwischen vervollkommneten Hilfsmitteln einer erneuten Bearbeitung. Die Versuchsanordnung wurde dahingehend modifiziert, daß

1. zur Ausfilterung der Spektralbezirke die von Bachmann (2) eingeführten, eine wesentlich bessere Trennung gestattenden Rhodamin-Farbstoffgemische — in Form von Gelatinefiltern — verwandt wurden und

2. alle Filter bezüglich ihrer Gesamtdurchlässigkeit den gleichen numerischen Wert erhielten (maximale Abweichung ± 5%). Die entsprechenden Farbstoffkonzentrationen konnten in Anlehnung an die Bachmannschen Daten empirisch ermittelt werden.

Methodisches.

Benutzt wurden:

1. Rotfilter, durchlässig von etwa 630 μ bis Rotende,
   (I. Säurerhodamin + Tartrazin + Nactralgrau;
   II. Rot für Dunkelkammerlicht)
2. Gelbgrünfilter, etwa 500—750 μ,
   (Patentblau + Tartrazin)
3. Blaugrünfilter, etwa 490—540 μ,
   (Smaragdgrün)
4. Blaufilter, etwa 430—480 μ.
   (Patentblau + Polnidinblau + Säurerhodamin)

Die Energiemessung erfolgte in bekannter Weise auf thermoelektrischem Wege mit einer Osram-Nitra- (200 Watt-) Lampe als Lichtquelle. Zur Ausschaltung der ultraroten Strahlung diente Kupfersulfatlösung nach Bachmann (a. a. O.). Die durch optische Inhomogenität der Filter bedingten Abweichungen in der Durchlässigkeit betrugen nicht mehr als ± 2%. Der absolute Energieinhalt des auffallenden Lichtes — durch Vergleich mit dem entsprechenden Wert der Hefner-Lampe be-

stimmt — wurde möglichst klein gewählt, um unerwünschte Spektralbezirke auszuschalten. Er betrug bei den Versuchsbedingungen 15 Erg. . cm^{-2} . sec.$^{-1}$ ± 20%.

Die Kultur des Pilzes gelang leicht aus Hypotheziumfragmenten auf sterilisiertem Kuhmist | Filtrierpapierstreifen, in einem für die Belichtung geeigneten flachen Thermostaten mit Glasdeckel (vgl. Abb. 10).

Als Lichtquelle diente die oben genannte Lampe. Abstand der Lampe von den Kulturen: 50 cm. Kulturgefäß: Esmarch-Schalen (4 cm Durchmesser). Versuchstemperatur: 25° ± 3%.

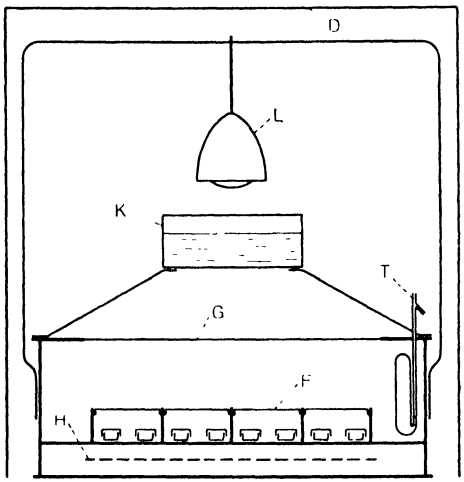


Abb. 10. Versuchsanordnung für die Belichtung des Myzels.
Zeichenerklärung: D = Dunkelsturz, F = Filter, G = Glasscheibe, H = Heizkörper, K = Kupfersulfatschale, L = Lampe, T = Toluolregulator.

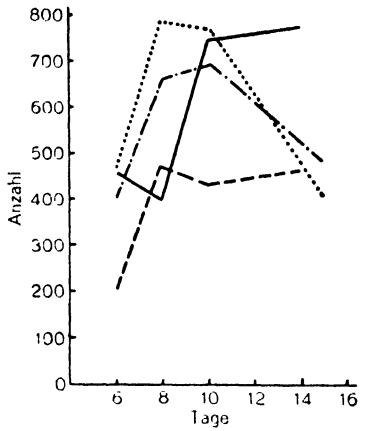


Abb. 11. Fruchtkörperbildung in verschiedenen Spektralbezirken in Abhängigkeit von der Belichtungszeit. Dauerbelichtungen.
Zeichenerklärung:
——— Blauer Spektralbezirk,
— — — blaugrüner Spektralbezirk,
— · — · gelbgrüner Spektralbezirk,
..... roter Spektralbezirk.

Die Versuche wurden a) in Form einer Dauer-, b) in Form einer kurzfristigen Belichtung durchgeführt:

a) Dauerbelichtung: Die beimpften Kulturen — 12 für jeden Spektralteil — wurden von Anfang an bis zum Eintritt der Apothecienbildung in Intervallen von 12 Std. dem Licht ausgesetzt, hierauf sofort die Apothecienzahl ermittelt. Tägliche Belichtungsdauer: 12 Std.

b) Kurzfristige Belichtung: Die Kulturen wurden zunächst 10 Tage im Dunkeln gehalten, nach Ablauf dieser Zeit die inzwischen herangewachsenen Myzelien einige Minuten bis 12 Std. belichtet und wiederum verdunkelt. Nach weiteren 3 Tagen erfolgte Zählung der Fruchtkörper.

Ergebnisse der Dauerbelichtung. Abb. 11 veranschaulicht die Gesamtproduktion an Fruchtkörpern in Abhängigkeit von der Belichtungsdauer, die Werte nach Spektralbezirken gesondert. Abszisse: Belichtungsdauer in Tagen, Ordinate: Summe der Fruchtkörper auf 12 Kulturen (Mittel aus 3 Zählungen).

Kurzfristige Belichtungsversuche. Abb. 12 a) und b) zeigen in graphischer Darstellung die Beziehungen zwischen Belichtungsdauer und Produktivität des reifen Myzels, und zwar:

Abb. 12 a) für kürzere Belichtungszeiten von 5—180 Min.;

Abb. 12 b) für längere Belichtungszeiten von 3—12 Std.

Abszisse: Belichtungsdauer in Minuten bzw. Stunden, Ordinate: Summe der Fruchtkörper auf 12 Kulturen.

Die Versuche ergaben, daß

1. eine mehr als 10tägige Belichtung des Myzels unter den herrschenden Intensitätsverhältnissen keine weitere Förderung der Fruchtkörperbildung auslöst,

2. keiner der 4 Spektralbezirke eine einwandfrei bevorzugte Wirkung auf das Myzel erkennen läßt,

3. erhebliche Schwankungen in der Fruchtkörperbildung des Myzels bestehen, die mit zunehmender Belichtungsdauer anfangs größtenteils ab-, dann wieder zunehmen.

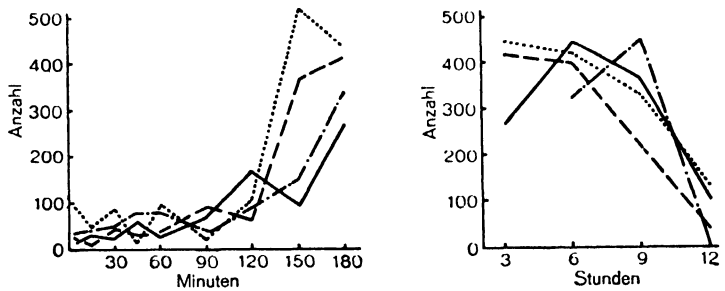


Abb. 12. Fruchtkörperbildung in verschiedenen Spektralbezirken in Abhängigkeit von der Belichtungszeit. Kurzfristige Belichtungen.

a) Belichtung von 5—180 Min.; b) Belichtung von 3—12 Std.

Zeichenerklärung: ———— Blauer Spektralbezirk,
– – – – – blaugrüner Spektralbezirk,
– · — · — gelbgrüner Spektralbezirk,
..... roter Spektralbezirk.

Die Konstruktion einer spektralen Empfindlichkeitskurve des Ascophanusmyzels ist mithin unter Zugrundelegung der Fruktifikation in den 4 Spektralbezirken nicht möglich. Wieweit die individuellen Schwankungen auf eine mit der Zeit sich einstellende Veränderung der Fruktifikationsbedingungen in einzelnen Kulturen zurückzuführen sind, bleibt dahingestellt. Im allgemeinen können jedoch Temperatur, Feuchtigkeit und Azidität des Substrats für die Dauer von 14 Tagen unter den angegebenen Versuchsbedingungen als hinreichend konstant betrachtet werden.

Erniedrigung oder Erhöhung der Temperatur bedeutet eine Verschlechterung der Fruktifikationsbedingungen und bewirkt infolgedessen, wie mehrere Versuche bei 20 und 30° bewiesen haben, eine weitere Vergrößerung der Abweichungen, ohne im übrigen eine Verschiebung der Resultate herbeizuführen.

Über den Mechanismus der primären Wirkung des Lichtes läßt sich im vorliegenden Falle angesichts des wenig befriedigenden Ausfalls der Ergebnisse etwas Bestimmtes nicht aussagen. Möglicherweise gelingt es, durch experimentelle Abänderung der formalen Entwicklungsbedingungen die Fruchtkörperbildung des Ascophanus gleichförmiger zu gestalten und dadurch vergleichbare Durchschnittswerte der Produktivität in den verschiedenen Spektralbezirken zu gewinnen. Es ist aber auch denkbar, daß photisch induzierte Folgeerscheinungen morphotischer Art überhaupt keinen

brauchbaren Maßstab zur quantitativen Erfassung der primären, physikalisch-chemisch bedingten Alterationen in den Zellen abgeben können.

Einer kurzen Erörterung bedarf die Entstehung des Paraphysenfarbstoffes.

Im Dunkeln gebildete Fruchtkörper von Ascophanus carneus sind stets milchweiß. Mit steigender Lichtintensität oder — bei konstanter Intensität — mit wachsender Belichtungsdauer nehmen die Apothecien bald eine gelbliche, allmählich ins Rötliche übergehende Färbung an. Im hellen, diffusen Tageslicht endlich weisen die Fruchtkörper ein ausgeprägtes Scharlachrot auf.

Die Farbstoffbildung kann ebenso wie die Fruchtkörperbildung vom Licht induziert werden. Belichtet man ein fruktifikationsreifes Myzel, so weisen die daraufhin im Dunkeln gebildeten Fruchtkörper im Gegensatz zu den bei völligem Lichtabschluß entstandenen Apothecien eine deutlich erkennbare gelbliche Färbung auf. Eine Lichtmenge, die zur Auslösung der Fruktifikation gerade ausreicht, genügt bereits, um den Apothecien den gelblichen Farbton zu verleihen. Die Induktion erfolgt unabhängig von der Temperatur und, bei Energiegleichheit des auftreffenden Lichts, in den 4 Spektralbezirken übereinstimmend. Maßgeblich für die Größe des Effekts ist innerhalb des sichtbaren Gebietes ausschließlich die Lichtmenge. Hiernach muß angenommen werden, daß das lichtempfindliche Substrat, gewöhnlich als Chromogen (oder eine Vorstufe dazu) bezeichnet, im Myzel diffus verteilt, die Bildung des Pigmentes jedoch an gewisse Bedingungen geknüpft ist, die normalerweise nur in den Paraphysenendzellen verwirklicht sind. Das gelegentliche Auftreten rosa gefärbter Myzelien spricht zugunsten dieser Anschauung. Über die Natur der die Färbung bedingenden Faktoren ist nichts bekannt.

C. Zusammenfassung.

1. Die von Bachmann beschriebene, für Pferdemist geltende Pilzfolge konnte auch auf den Exkrementen anderer Pflanzenfresser (Kuh, Schaf, Ziege, Esel) nachgewiesen werden. Sie wird lediglich durch die verschiedene Entwicklungsgeschwindigkeit der beteiligten Arten bedingt. Eine gegenseitige Beeinflussung der einzelnen Pilzformationen im Sinne Cookes kann für das Auftreten der Pilzfolge nicht verantwortlich gemacht werden.

2. Temperatur und Wassergehalt des Substrats bestimmen in Verbindung mit anderen, noch unbekannten Faktoren den Zeitpunkt des Eintritts der Fruktifikation. Die normale, Bachmannsche Pilzfolge: Phycomyceten — Ascomyceten — Basidiomyceten kommt infolgedessen nur innerhalb eines engbegrenzten Temperatur- und Feuchtigkeitsbereiches zustande. Als untere und obere Temperaturgrenzen wurden + 18 bzw. + 35° ermittelt, für den Wassergehalt des Substrats ergaben sich Werte, die einer Saugkraft von 3 bzw. 8 Atm. entsprechen. Das Optimum liegt zwischen 5 und 6 Atm. Außerhalb der genannten Grenzen wird die normale Pilzfolge modifiziert und durchbrochen, indem entweder eine Umgruppierung erfolgt oder einzelne Vertreter bzw. ganz Formationen entfallen. Nach Eintritt günstiger Verhältnisse können die ausgebliebenen Arten nachträglich zum Vorschein kommen.

3. Die koprophilen Myxobakterien und Imperfecten nehmen innerhalb der Pilzfolge keinen bestimmten Platz ein. Ihr Auftreten hängt, so-

weit untersucht, ausschließlich von den jeweiligen Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen ab.

4. Die starke Eigenpufferung des Substrats bedingt auch bei üppigster saprophytischer Besiedlung eine weitgehende zeitliche Konstanz der Wasserstoffzahl, die sich bis zum Abschluß der Pilzvegetation in der Umgebung des Neutralpunktes bewegt. Die geringen Schwankungen des p_H sind für die Pilzfolge bedeutungslos.

5. Das Licht übt in einem einzigen der untersuchten Fälle (Ascophanus carneus) einen Einfluß auf den Zeitpunkt der Fruktifikation aus.

Die relative spektrale Empfindlichkeit des Myzels läßt sich auch unter konstanten optimalen Kulturbedingungen auf dem Wege der Fruchtkörperzählung nicht einwandfrei ermitteln.

6. Die geschilderten Gesetzmäßigkeiten gelten ausnahmslos für die auf den Exkrementen der pflanzenfressenden Haustiere beobachteten Erscheinungen. Ob die auf Mist von Fleisch-, Körner- und Allesfressern, ferner auf Wildmist auftretenden koprophilen Pilze ähnlichen Gesetzen unterworfen sind, ist noch ungeklärt.

Literaturverzeichnis.

1. Bachmann, H., Pilzstudien an Pferdemist. (Mikrokosmos. Bd. 9. 1915, 1916.) — 2. Bachmann, Fr., Über die Verwendung von Farbfiltern fur pflanzenphysiologische Forschungen. (Planta. Bd. 8. 1929.) — 3. Baden, M. L., Observations on the germination of the spores of Coprinus sterquilinus Fr. (Ann. of Bot. Vol. 39. 1915.) — 4. Bersa, E., Kultur und Ernährungsphysiologie der Gattung Pilobolus. (Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien., Math.-Naturwiss. Klasse. Abt. 1. Bd. 139. 1930.) — 5. Bokorny, Th., Einwirkung einiger basischer Stoffe auf Keimpflanzen, Vergleich mit der Wirkung auf Mikroorganismen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 32. 1912.) — 6. Bommer, E., et Rousseau, M., Contributions à la flore mycologique Belgique. (Bull. Soc. Roy. Bot. Belg. T. 25. 1886.) — 7. Brefeld, O., Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. Leipzig 1872. — 8. Claussen, P., Zur Entwicklungsgeschichte der Ascomyzeten. Boudiera. (Bot. Ztg. Bd. 63. 1905.) — 9. Cook, M., Succession of Fungi on culture media. (Amer. Journ. of Bot. Vol. 11. 1924.) — 10. Delitsch, H., Zur Entwicklungsgeschichte der koprophilen Askomyzeten. Diss. Leipzig 1926. — 11. Dodge, B. O., Methods of cultures and the morphology of the archicarp in certain spec. of the ascobolaceae. (Bull. Torrey. Bot. Club. Vol. 39. 1912.) — 12. Dodge, B. O., Artificial cultures of Ascobolus and Aleuria. (Mycologia. Vol. 4. 1912.) — 13. Dowding, E. S., The sexuality of Ascobolus stercorarius and the transplantation of Oidia by Mites and Flies. (Ann. of Bot. Vol. 45. 1931.) — 14. Fischer, A., Phycomyceten. (Rabenhorst. Cryptogamenflora. Bd. 1. Abt. IV. 1892.) — 15. Gräntz, E., Über den Einfluß des Lichtes auf die Entwicklung einiger Pilze. Diss. Leipzig 1898. — 16. Green, E., Observations on certain Ascoboleae. (Transact. Brit. Mycol. Soc. Vol. 15. 1931.) — 17. Griffiths, D., The north-american Sordariaceae. (Mem. Torrey. Bot. Club. Vol. 11. 1901.) — 18. Gwynne-Vaughan and Williamson, The cytology and development of Ascobolus magnificus. (Ann. of Bot. Vol. 46. 1932.) — 19. Hansen, E. Chr., Fungi fimicoli Danici. (Medd. fra de naturhist. Foren. 1. København 1876.) — 20. Harder, R., Über den Wasser- und Salzgehalt und die Saugkräfte einiger Wüstenböden. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 72. 1930.) — 21. Janczewski, E. v. G., Morphologische Untersuchungen über Ascobolus furfuraceus. (Bot. Ztg. Bd. 29. 1871.) — 22. Karsten, P., Monographia Ascobolorum Fenniae. (Notiser faun. flor. Fennica. Bd. 11. 1870.) — 23. Kellner, O., und Fingerling, G., Die Ernährung der landwirtschaftlichen Nutztiere. Berlin (Parey.) 1920. — 24. Kniep, H., Beiträge zur Kenntnis der Hymenomyceten. II. (Ztschr. f. Bot. Bd. 5. 1913.) — 25. Kofler, L., Myxobakterien der Umgebung Wiens. (Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien, Math.-Naturwiss. Klasse. Bd. 122. I. 1913.) — 26. Lakon, G., Die Bedingungen der Fruchtkörperbildung bei Coprinus. (Ann. Mycol. 1907.) — 27. Marchal, E., Champignons coprophiles de la Belgique. I—VII. (Bull. Soc. Roy. Bot. Belge. 1884—1895.) — 28. Massee, G., and Salmon, E.,

Research on coprophilous Fungi. (Ann. of Bot. Vol. 15. 1901/02.) — 29. Molliard, M., Rôle des bactéries dans la production des perithèces des Ascobolées. (Compt. Rend. l'Acad. Sc. T. 136. 1903.) — 30. Mouton, O., Ascomycetes observés aux environs de Liège. (Bull. Soc. Roy. Bot. Belg. T. 25. 1896.) — 31. Oltmanns, F., Über die Entwicklung der Perithecien in der Gattung Chaetomium. (Bot. Ztg. Bd. 45. 1887.) — 32. Pringsheim, E. G., Pilzkultur. (Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmeth. Bd. 11. 2. 1924.) — 33. Ramlow, G., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Ascoboleen. (Mykol. Zentralbl. Bd. 5. 1914.) — 34. Rehm, H., Ascomyceten. (Rabenhorst, Kryptogamenflora von Deutschland. Abt. III. Bd. 1. 1896.) — 35. Rostrup, E., Islands Swampe. (Bot. Tidsskr. Bd. 14 u. 25. 1895, 1903.) — 36. Schenck, E., Die Bedingungen der Fruchtkörperbildung bei Bolbitius und Coprinus. (Beih. Bot. Zentralbl. Bd. 36. I. 1919.) — 37. Schmidt, A., Die Verbreitung der koprophilen Pilze Schlesiens. (Planta. Bd. 7. 1929.) — 38. Schroeter, J., Die Pilze Schlesiens. (Cohn, Cryptogamenflora von Schlesien. Bd. 3. Abt. I und II., 1889—1908.) — 39. Schweizer, G., Kulturmethode für koprophile Ascomyceten. (Planta. Bd. 7. 1929.) — 40. Ternetz, Ch., Protoplasmabewegung und Fruchtkörperbildung bei Ascophanus carneus. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 35. 1900.) — 41. Ursprung, A., und Blum, G., Zwei neue Saugkraftmeßmethoden. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 72. 1930.) — 42. Winter, G., Ascomyceten. (Rabenhorst, Kryptogamenflora. Bd. 1. Abt. II. 1887.) — 43. Wolf, Fr. A., Spore formation in Podospora anserina (Rbh.) Wint. (Ann. Mycol. Vol. 10. 1912.) — 44. Zopf, W., Zur Entwicklungsgeschichte der Ascomyceten, Chaetomium. (Nova Acta Leopold. Acad. Halle. Bd. 42. 1881.)

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Zählung von Bodenbakterien.

[Aus dem Agrikulturchemischen Institut Weihenstephan.]

Von **H. Niklas** und **M. Miller**.

In vorliegender Zeitschrift (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 74. 1928) wurden von G. Kühlmorgen-Hille unter dem Titel „Vergleichende Prüfung der Methoden zur Ermittlung der Keimzahl im Boden" 4 verschiedene Methoden zur zahlenmäßigen Bestimmung der Mikroorganismen im Boden auf ihre gegenseitige Übereinstimmung geprüft. Die Prüfung erfolgte rein gefühlsmäßig, wobei auf eine exakte Auswertung des Zahlenmaterials verzichtet wurde. Das Gesamturteil lautete dahin, daß die mit Peptonverdünnung festgestellten Keimzahlen zu den Ergebnissen der Plattenmethode in angemessenem Verhältnis stehen. Der Reduktionsfaktor 1,7 g wurde in der Weise gewonnen, daß aus sämtlichen Quotienten (Peptonzählung : Plattenzählung) das arithmetische Mittel errechnet wurde. Die beiden anderen Zählmethoden von Conn und Winogradsky zeigten schon auf Grund einer rohen Abschätzung keinerlei Übereinstimmung mit den beiden erstgenannten Methoden. Da unterdessen auch die zahlenmäßige Bestimmung von Mikroorganismen in Milch in exakter Weise von Demeter, Sauer und Miller mit Erfolg behandelt wurde (Milchwirtschaftl. Forschungen. Bd. 15. 1933. S. 265—280), scheint uns eine analoge Behandlung dieser Frage auch für die Bodenbakterien nicht nutzlos zu sein. Wir bedienen uns hierbei der von W. U. Behrens (Landw. Jahrb. 1930. S. 591—605) vorgeschlagenen Korrelationsanalyse nach der Rangmethode. Da die Arbeit von Behrens alles Wissenswerte über Theorie und praktische Handhabung der Rangkorrelation enthält, sei für die folgenden Ausführungen ein für allemal auf diese Arbeit verwiesen.

Wir lassen zunächst die von G. Kühlmorgen-Hille mitgeteilten Endergebnisse nebst den zugehörigen Rangzahlen folgen:

Bodenart	Reaktion		Platten-verfahren		Pepton-verdünnungs-verfahren		Conn		Wino-gradsky	
	p_H	Rangzahl	Millionen je g Erde	Rangzahl	Millionen je g Erde	Rangzahl	Millionen je g Erde	Rangzahl	Millionen je g Erde	Rangzahl
Acker	5,5	6,5	19	10	25	10,5	74	16	180	18
„	5,0	11,5	73	1	100	1,5	200	2	305	10
„	5,7	4,5	31	6,5	50	5	133	4	422	3
„	5,1	9,5	8	14,5	10	14,5	96	9	407	4
Sandgrube	5,7	4,5	54	3	50	5	353	1	594	2
Garten	4,8	14,5	1	18	2	18,5	60	17	224	17
„	5,8	3	71	2	100	1,5	57	18	322	9
Acker	6,1	1	22	9	25	10,5	80	15	302	11
„	5,0	11,5	8	14,5	25	10,5	82	14	406	5
„	5,2	8	33	5	50	5	91	10	272	13
„	5,1	9,5	31	6,5	50	5	83	13	257	14
„	4,8	14,5	41	4	50	5	155	3	225	16
„	5,5	6,5	23	8	25	10,5	40	19	40	19
Sumpf	4,6	16	10	12	25	10,5	90	11	605	1
„	6,0	2	10	12	25	19,5	115	6	284	12
„	4,9	13	10	12	10	14,5	122	5	230	15
Bruch	4,2	17	1	18	2	18,5	105	7	379	7
„	3,1	18	1	18	5	16,5	85	12	352	8
„	2,8	19	2	16	5	16,5	101	8	399	6

Die nach der Formel $\varrho = 1 - \frac{6\,D^2}{n\,(n^2-1)}$ berechneten Rangkorrelationskoeffizienten stellen wir in folgender Tabelle zusammen:

	p_H	Platten	Pepton	Conn	Wino-gradsky
pH	—	+ 0,5636	+ 0,5597	— 0,1347	— 0,1048
Platten . .	+ 0,5636	—	+ 0,9575	+ 0,2395	— 0,0956
Pepton . .	+ 0,5597	+ 0,9575	—	+ 0,2232	+ 0,0469
Conn . . .	— 0,1347	+ 0,2395	+ 0,2232	—	+ 0,3789
Winogradsky	— 0,1048	— 0,0956	+ 0,0469	+ 0,3789	—

Mit den p_H-Werten zeigen nur die beiden Methoden Platten und Pepton einigermaßen Übereinstimmung. Im Einklang damit steht auch die starke Korrelation (0,9575), die zwischen diesen beiden Methoden herrscht. Die übrigen Methoden (Conn und Winogradsky) stimmen weder mit den p_H-Werten, noch mit den anderen Methoden überein. Die Übereinstimmung zwischen Conn und Winogradsky (0,3789) ist ebenfalls mangelhaft. Den mittleren Fehler der Korrelationen könnte man wohl nach den von W. U. Behrens entwickelten Formeln berechnen. In Anbetracht dessen, daß der Korrelationskoffizient ϱ in den meisten Fällen schon ganz geringe Werte aufwies, erschien uns die Berechnung des mittleren Fehlers von ϱ nur bei dem größten Wert (Pepton-Platten) angebracht.

Wir fanden

$$s(\varrho) = \frac{\sqrt{381{,}875 - {}^1/_{19} \cdot 48{,}5^2}}{{}^1/_6 \cdot 19 \cdot 360} = 0{,}014.$$

Die Näherungsformel ergibt:

$$s(\varrho) = \frac{1 - \varrho^2}{\sqrt{n}} = 0{,}019.$$

Die Korrelation zwischen der Plattenmethode und der Peptonmethode ist also außerordentlich stark (0,9575), der geringe Fehler 0,014 bzw. 0,019 weist auf eine große Sicherheit des Resultates hin.

Das günstige Ergebnis nach der Rangmethode für den Zusammenhang der Platten- und Peptonmethode kann noch gesichert werden durch den Vergleich mit dem Bravaischen Koeffizienten. Bezeichnet man die Werte der Plattenmethode mit x und die der Peptonmethode mit y, so erhält man den Bravaischen Korrelationskoeffizienten nach der Beziehung:

$$r = \frac{[x\,y] - \frac{[x]\,[y]}{n}}{\sqrt{\left([x^2] - \frac{[x]^2}{n}\right)\left([y^2] - \frac{[y]^2}{n}\right)}}$$

Es ergab sich $r = 0{,}9619$.

Nach der Pearsonschen Formel ist bei normaler Korrelation

$$r = 2 \cdot \sin\left(\frac{\pi}{6} \cdot \varrho\right).$$

In unserem Falle ist also $r = 2 \cdot \sin 28^0\,43{,}5' = 0{,}9612$. Dieser Wert stimmt sehr gut mit dem von uns gefundenen Wert 0,9619 überein, so daß wir die Korrelation unbedenklich als normal bezeichnen können.

Wie bereits eingangs erwähnt wurde, fanden Kühlmorgen-Hille als Reduktionsfaktor zwischen der Platten- und der Peptonmethode den Wert 1,79. Das Verfahren, nach dem diese Zahl berechnet wurde, ist ein Näherungsverfahren, das für den Faktor einen zu hohen Wert angibt. Wir haben deshalb nach dem exakten Verfahren die beiden Regressionslinien berechnet. Wir fanden nach bekannten Rechenregeln:

$$y = 1{,}244\,x + 3{,}97$$
$$x = 0{,}744\,x - 1{,}18$$

Als Rechenkontrolle dient die Beziehung:

$$r = 0{,}9619 = \sqrt{1{,}244 \cdot 0{,}744}.$$

Berücksichtigt man noch, daß die Gerade eigentlich durch den Koordinatenanfangspunkt gehen soll, so ergeben sich als Regressionslinien die Gleichungen:

$$y = 1{,}334\,x$$
$$x = 0{,}723\,y$$

Der modifizierte Bravaische Korrelationskoeffizient beträgt hier:

$$r' = \sqrt{1{,}334 \cdot 0{,}7231} = 0{,}9882.$$

Der von Kühlmorgen-Hille gefundene Reduktionsfaktor 1,79 ist sicherlich zu groß, wie aus obigen Rechnungen hervorgeht. Er ist füglich durch 1,24 bzw. 1,33 zu ersetzen. Will man die beiden Methoden mit guter Übereinstimmung gegeneinander abschätzen, so ist zunächst an den Ergebnissen der Peptonmethode auffallend, daß hier ein und derselbe Wert zumeist öfter erscheint. So tritt der Wert 25 Millionen 6 mal und der Wert 5 Millionen 5 mal auf. Dies deutet darauf hin, daß die Skala dieser Methode nur wenige Stufen aufweist. Die Plattenmethode ist im Gegensatz hierzu weniger an diese stufenförmige Einteilung der Böden gebunden. Damit ist aber noch keineswegs erwiesen, daß die Plattenmethode richtigere Werte liefert als das Peptonverfahren. Wir können vielmehr aus der relativ guten Übereinstimmung dieser beiden Methoden lediglich folgern, daß die Wahrscheinlichkeit, auf Grund dieser beiden Methoden annähernd richtige Ergebnisse zu bekommen, größer ist als bei den übrigen Methoden.

Zusammenfassung.

Es wurde die Übereinstimmung der Ergebnisse von 4 verschiedenen Methoden zur Ermittlung der Keimzahl im Boden korrelationsanalytisch untersucht. Befriedigende Übereinstimmung konnte nur bei dem Plattenverfahren und dem Peptonverdünnungsverfahren festgestellt werden. Der Vergleich des Rangkorrelationskoeffizienten mit dem Bravaischen Koeffizienten berechtigt zu der Annahme, daß zwischen den Ergebnissen der beiden Methoden normale Korrelation herrscht. Ferner besteht auch ein gewisser Zusammenhang zwischen den Werten der beiden übereinstimmenden Methoden und den pH-Werten. Der von Kühlmorgen-Hille errechnete Reduktionsfaktor 1,79 ist durch den niedrigeren Wert 1,24 bis 1,33 zu ersetzen.

Nachdruck verboten.

Über das Verhalten des Sphaerotilus-Aufwuchses in schwefelwasserstoffhaltigem Wasser.

Von **Einar Naumann.**

Mit 4 Abbildungen im Text.

Der büschelige Aufwuchs von Sphaerotilus natans kommt bekanntlich nur bei einer recht starken Verschmutzung in strömendem, verhältnismäßig sauerstoffreichem Wasser zur Entwicklung. Losgerissener Aufwuchs, der in ruhiges Wasser gerät, kann sich nicht weiter entwickeln; für gewöhnlich dürfte er recht bald der Fäulnis anheimfallen. Das sind Verhältnisse, die in den Bereich der sog. sekundären Verunreinigungen fallen — ein Faktorenkomplex, worüber zwar recht vieles geschrieben worden ist, aber wo die Tatsachen leider ganz besonders auffallend selten sind.

Es ist nicht meine Absicht, in dem folgenden über die sekundäre Verunreinigung als solche etwas Neues zu bringen. Es ist aber meine Absicht, klarzulegen, wie sich Sphaerotilus ökologisch verhält, wenn er in ein derartiges Milieu gerät, wo er eben Anlaß zur sekundären Verunreinigung

geben kann. Das sind Fragen, die noch ganz unbeachtet sein dürften, deren Klarlegung hingegen schon für die abwasserbiologische Analyse selbst von Bedeutung sein dürfte.

I. Versuchsanordnung.

Das makroskopische Verhalten des Aufwuchses.

Das bei den einschlägigen Untersuchungen gebrauchte Material wurde im Februar 1933 aus dem Fluß Motala Ström, innerhalb der Stadt Norrköping (Schweden) als Büschel geholt. Aus den Vorratsaquarien, wo es in bewegtem Wasser gehalten wurde, wurde es zwecks einschlägiger Versuche in Aquarien mit stagnierendem Wasser übergeführt. In der in dem folgenden zu besprechenden Versuchsreihe handelt es sich um 4 Aquarien, je 2 in Wärme (bei etwa + 20°) bzw. Kälte (bei etwa 10°) gehalten.

Der in stagnierendes Wasser übergeführte Aufwuchs fällt sofort zusammen. Die ursprünglich graue Farbe — vielleicht mit einem Stich ins gelbe — geht dann recht bald in schwarz über. Diese schwarze Farbe hält an, solange das Wasser sich noch als sauerstofffrei erweist, also eine größere Produktion von Schwefelwasserstoff stattfinden kann. Sie kann gewissermaßen als das einfachste Zeichen dafür gelten, daß die Selbstverunreinigung ihren Höhepunkt — eben das H_2S-Milieu — erreicht hat.

Die schwarze Farbe geht dann mit eintretendem Überschuß an Sauerstoff wiederum in grau und gelb über. Die Selbstreinigung ist damit beendet.

Abb. 1. Gipfel eines grauen bzw. (links) schwarzen Büschels. Vergr. 100 ×.

Abb. 2. Schwarzes Fadengewirr. Vergr. 100 ×.
Abb. 1 u. 2 nach Material ohne Vorbehandlung.

II. Das mikroskopische Verhalten des Aufwuchses.

A. Das Verhalten der Scheide.

Die normal vorhandene Röhrenscheide ist wohl oftmals recht reich an Eiseneinlagerung. Im allgemeinen sieht man allerdings unter normalen Bedingungen nichts davon; nur in Ausnahmefällen ist die Scheide deutlich gelb.

Auf dem Höhepunkt der Selbstverunreinigung zeigt aber die Scheide eine schwarze Färbung. Nach vollendeter Selbstreinigung ist die Farbe wiederum grau.

Die Farbe der Röhrenscheide kann demnach als ein Indikator des H_2S-Milieus gebraucht werden.

B. Das Verhalten der Zellen bzw. der Zellfäden.

Abb. 3. Zellfäden in Fragmentation; „Zerstäubung" des Zellinhalts. Vergr. 600 ×. Nach Material, behandelt mit Jodjodkalium.

Der normale Aufbau der Fäden ist der aus dicht liegenden Zellen, die entweder einen homogenen oder feinkörnigen Inhalt aufzeigen. So gebaute Fäden kommen auch in allen Stadien der Selbstverunreinigung vor.

Auf dem Höhepunkt der Selbstverunreinigung treten aber eine Reihe von charakteristischen Veränderungen auf, die wohl nach ihrem zeitlichen Auftreten folgenderweise gruppiert werden können.

1. Der Zellinhalt wird oftmals stark aufgeteilt, so daß aus jeder Zelle eine Reihe kleinere runde Gebilde von $< 1\ \mu$ Durchmesser entstehen.

2. Leere Zellen werden immer häufiger.

3. An derartigen leeren Strecken bricht die Röhrenscheide leicht ab. Diese Fragmentierung kann in großem Umfang auftreten.

Die Fragmentierung der Fäden und die „Zerstäubung" des Zellinhalts ist vor allem für den Höhepunkt der Verunreinigung charakteristisch. Dies bedeutet natürlich zum Schluß einen vollständigen Zerfall der alten Fäden.

Es ist aber von wesentlicher Bedeutung, daß auch auf dem Höhepunkt der Selbstverunreinigung Zellfäden gefunden worden sind, die ohne Zweifel im normalen nustande waren.

Sphaerotilus natans kann also schon in normaler Fadenform Perioden durchleben (Stagnation des Wassers, H_2S-An-

reicherung), wo eine normale Entfaltung der Büschel allerdings nicht ermöglicht werden kann.

III. Ausblick.

So weit nun die Tatsachen, die m. E. ohne weiteres ihren Wert haben.

Dazu möchte ich zum Schluß folgendes von vorläufig nur hypothetischem Wert bringen.

Es dürfte noch nichts Sicheres darüber bekannt sein, inwieweit Sphaerotilus ungünstige Perioden als Dauerbildungen durchleben kann.

Vielleicht wäre es doch nicht verfehlt, in den zellularen Vorgängen auf dem Höhepunkt der Selbstverunreinigung eine Art von Ausbildung von Dauerkonidien zu suchen?

Diese Frage fordert indessen noch weitere Nachforschungen.

Lund, Limnologisches Institut der Universität, im Herbste 1933.

Abb. 4. Zellfäden in Fragmentation; „Zerstäubung" des Zellinhalts. Vergr. 600 ×. Nach Material, behandelt mit Jodjodkalium.

Literaturverzeichnis.

Naumann, Einar, Ist Cladothrix dichotoma Cohn 1875 mit Sphaerotilus natans Kützing 1833 identisch? (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933.) — Die Schleimscheide bei Sphaerotilus natans als vorübergehende Erscheinung des normalen Lebens. (Ebenda. 1933.) — Über Eisenanreicherung bei Sphaerotilus natans Kützing. (Botaniska Notiser. Lund 1933.) — Über die Rohkultur von Sphaerotilus natans Kützing in Büschelform. (Svensk Botanisk Tidskr. Bd. 27. 1933.) — Gesichtspunkte zur Beurteilung des Produktionsstandards von Sphaerotilus natans Kützing. (Ebenda. 1933.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über den Einfluß von Lithiumchlorid auf Bacterium coli.

I. Mitteilung:

Morphologische Veränderungen.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Preußischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel. Direktor: Prof. Dr. Henneberg.]

Von Privatdozent Dr. **K. Richter.**

Mit 7 Abbildungen im Text und 2 Tafeln.

In einer Reihe von Arbeiten ist von Kuhn (1) und Kuhn und Sternberg (2) die Behauptung aufgestellt worden, daß die Kulturen der verschiedensten Mikroorganismen, wie z. B. Bact. coli, Bact. proteus, Vibrio cholerae usw., die Entwicklungsstadien zweier selbständiger, miteinander vergesellschafteter Organismen enthalten, die von Kuhn als Bakterien und Pettenkoferien (A-Formen) bezeichnet werden. Die Pettenkoferien sollen hierbei Parasiten der Bakterien darstellen und z. T. auf und in den Bakterien schmarotzen. Kuhn (1) teilte die von ihm in normalen Kulturen und in Kulturen unter Zusatz von Salzen bzw. Farbstoffen beobachteten Formen in 4 Gruppen ein.

a) B-Formen = Stäbchen und einfache Fäden.
b) C-Formen = kokkenähnliche Formen.
c) D-Formen = breite Fadengebilde mit unechter Verzweigung.
d) A-Formen = Pettenkoferien = rundliche vergrößerte Gebilde, oft mit amöboider Bewegung oder Formveränderung.

Die B- und C-Formen fassen Kuhn und Sternberg (2) als verschiedene morphologische Entwicklungsformen der Bakterien auf, während die D-Formen nach ihnen durch Pettenkoferien befallene Bakterien darstellen; die A-Formen endlich sollen aus mit „Pettenkoferien" befallenen Bakterien hervorgehen und selbständige „Pettenkoferien" darstellen. Diese A-Formen oder „Pettenkoferien" können nach Kuhn (1) von einer bestimmten Größe ab ohne Zusammenhang mit den Bakterien wachsen und eine stattliche Größe erreichen. Häufig sieht man in ihnen eine oder mehrere Vakuolen. Durch Verschmelzung von je 2 verschieden großen Pettenkoferien entstehen nach Kuhn (1) Formen erheblicher Größe, welche „an die Form eines Luftballons" erinnern. In ihnen sollen Körner verschiedener Größe entstehen, die nach dem Verfall der großen Zellen frei werden und erneut Bakterien infizieren können (Pettenkoferien-Cysten und -Sporen).

Wie Kuhn (1) angibt, sind derartige Formen schon von den verschiedensten Autoren, wie Perki (1852), Lankester (1876), Löhnis u. a. beobachtet und unter den verschiedensten Namen beschrieben worden. Auch neuerdings sind ähnliche Gebilde u. a. von Hausam (3), Henneberg (4), Ziegenspeck und Wilke (5), Ziegenspeck und Koch (6), Wamoscher (7), Stapp und Zycha (8), Hussong (9), Klieneberger (10) u. a. beobachtet und beschrieben worden. Während Ziegenspeck, Wilke und Koch in ihrer Deutung dieser Formen der Auffassung Kuhns (1) sehr nahestehen, lehnen die meisten anderen

Autoren eine Deutung dieser Formen im Sinne Kuhns ab; Henneberg, Hausam, Stapp und Zycha sehen z. B. in den Formen, die sie bei den von ihnen untersuchten Organismen erhielten, Degenerationserscheinungen, denen die Fähigkeit zur Vermehrung fehlt, während Wamoscher (7) seine bei Bact. typhi flavum beobachteten Formen als Syncytien auffaßt, aus denen unmittelbar wieder normale Bakterien entstehen können (Beobachtung in „Einzellkulturen"). Henneberg beobachtete abnorme „Zellen" außer bei Bact. coli, besonders bei einem zur Alkaligenes-Gruppe gehörigen Kurzstäbchen, das in normalen Nährlösungen wie besonders in 3% Kochsalz und 1% Lithiumchlorid enthaltenden Nährlösungen reichlich abnorme Formen bildete, die von Henneberg als schnell absterbende Krankheitsformen angesehen werden. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen Hausam (3) bei Bact. coli und Stapp und Zycha (8) bei Bac. mycoides. Eine eingehende Kritik der Arbeiten bis 1930 findet sich in den Veröffentlichungen von Klieneberger (10) und Kuhn und Sternberg (2). Kuhn und Sternberg gehen hier besonders ausführlich auf die Arbeit Klieneberger ein, in der auf Grund eigener Untersuchungen die Deutungen Kuhns abgelehnt und die „Pettenkoferien" als Reizformen gedeutet werden. Kuhn und Sternberg (2) lehnen diese Auffassung als unbewiesen ab und glauben auch die Beobachtungen Klieneberger (10) über die von ihr beobachtete Vermehrung der „Pettenkoferienformen" und ihre Rückwandlung in normale Stäbchenformen zurückweisen zu können. Sie schreiben hierzu wörtlich (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, 1931, S. 152):

„Klieneberger stützt ihre Ansichten hauptsächlich auf ein Experiment, das sie auf S. 505—506 beschreibt. Sie hat Formen, die sie auf Lithiumnahrböden gezüchtet hat, auf normale Nährböden übertragen und hat dabei die noch entwicklungsfähigen mittleren und kleinen Formen unter Streckungen in normale Stabchenkolonien zurückverwandelt. Bei solchen Versuchen ist zu beachten, daß die jungeren Pettenkoferien mit Bakterienformen besetzt sind, die teilweise noch voll entwicklungsfähig sind (vgl. die Abb. 4, Taf. VI und Abb. 4, Taf. XII). Ferner muß bedacht werden, daß die Bakterienformen, die von Pettenkoferien infiziert sind, anschwellen und noch eine gewisse Zeit lebensfähig bleiben, bis sie aufgefressen sind und die Pettenkoferien frei werden.

Das Experiment von Klieneberger ist also nur ein Beweis dafur, daß Lithiumchlorid auf die Entwicklung der Pettenkoferien irgendeinen Einfluß hat, aber ihr Schluß, daß die Pettenkoferien aufgetriebene Bakterien sind, ist nicht zwingend. Die Beobachtung von Klieneberger, daß außer dem Salzeinfluß „ein gewisser Gehalt an Nährstoffen zur Ausbildung der großen Formen nötig ist", paßt nicht zu der Vergiftung der Formen, wohl aber zu der Vorstellung, daß die „großen Formen" selbständige Lebewesen sind, die, wie alle Lebewesen auf der Erde, um so besser gedeihen, je besser sie gefuttert werden. Erschwert wird die Beurteilung der Kliebergerschen Befunde durch eine nicht ganz klare Unterscheidung der A-Formen in große Formen und in runde Formen; denn die großen Formen sind häufig auch rund. Die runde Gestalt soll nach Klieneberger bei Nahrstoffmangel unter Salzwirkung von den Bakterien angenommen werden. Es bleibt jedoch unklar, ob diese Bemerkung sich auf kleine Pettenkoferien oder auf C-Formen bezieht."

Eine vollständige Klärung der Frage des Wesens der „Pettenkoferien" ist, wie aus der obigen Übersicht hervorgeht, bisher noch nicht erfolgt, da gegen die versuchstechnische Durchführung der Autoren, die eine Vermehrung nicht beobachteten, z. T. gewichtige Einwände erhoben werden können. Bei den „Einzellkulturen", wie sie z. B. Stapp und Zycha (8) durchführten, kann eine Schädigung durch die Isolation in der Mikropipette herbeigeführt werden, während bei direkter mikroskopischer Beobachtung in flüssigen Nährböden auftretende Vermehrung u. U. übersehen werden kann

oder geeignete Bedingungen für die Weiterentwicklung nicht vorhanden zu sein brauchen.

Die in der Hauptsache strittige Frage ist die, ob die „Pettenkoferien" selbständige Lebewesen darstellen oder ob sie in den Entwicklungsgang der Bakterien als normale oder Degenerationsformen hineingehören. Die Untersuchungen wurden von mir an Bact. coli durchgeführt, da Kuhn und Sternberg (2) einen sehr großen Teil ihrer Untersuchungen ebenfalls mit diesem Organismus vorgenommen haben und gerade auf Grund der hierbei erzielten Ergebnisse zu ihren Schlußfolgerungen kommen.

Für die Untersuchungen wurden von mir Nährböden verschiedener Zusammensetzung mit Zusätzen von Lithiumchlorid und Kristallviolett verwendet, da nach den Erfahrungen der zitierten Autoren diese Stoffe das Auftreten der „Pettenkoferien" begünstigen. — Die Versuche, die bis in das Jahr 1931 zurückgehen, wurden mit einer größeren Zahl von Stämmen des Bact. coli verschiedener Herkunft (Milch, Urin, Kot) durchgeführt. Vorweg bemerkt sei, daß die Stämme im allgemeinen gleichartiges Verhalten zeigten, daß aber gewisse Schwankungen in ihrer Resistenz gegenüber Formveränderungen (Auftreten und Größe der „Pettenkoferien") bei gleicher Konzentration der Salze zu beobachten waren. Die Versuchstechnik entsprach weitgehend der von Kuhn und Sternberg (2) angegebenen. Die Übertragung der Organismen auf die Platten erfolgte entweder in Form der Tüpfelkultur nach Kuhn oder in Form der Anlage von Ausstrichplatten mit Hilfe steriler Impfnadeln bzw. Drigalski-Spateln. Zur Untersuchung im lebenden und gefärbten Zustande wurde in erster Linie die von Kuhn (1) angegebene Methode der Untersuchung von Agarausstichen verwendet, die m. E. mit größerer Sicherheit und Klarheit eine Deutung der zu beobachtenden Vorgänge ermöglicht als die „Einzellkultur", bei deren Herstellung Schädigungen der isolierten Zellen auftreten können, die u. U. zu einem negativen Ausgang der Züchtungsversuche führen können. Mit Ausnahme der O_2-Versorgung bietet dagegen die Methode der Agarausstichkultur den Organismen die gleichen Entwicklungsbedingungen wie die Plattenmethode. Im folgenden sollen zuerst die Ergebnisse der Plattenzüchtung und der Beobachtung der Färbepräparate und Klatschpräparate von diesen und anschließend die Ergebnisse der Züchtung im Agarausstichkultur-Präparat behandelt werden.

A. Untersuchungen an Plattenmaterial im lebenden und gefärbten Zustand.

Der erste Teil meiner Untersuchungen hatte den Zweck, festzustellen, ob bei den von mir geprüften Bakterienstämmen auf Lithiumchlorid-Agar und Kristallviolett-Agar das Auftreten der gleichen Formen beobachtet werden konnte, wie sie Kuhn und Sternberg (2) angeben. Die Versuchstechnik entsprach in allen Einzelheiten der von Kuhn und Sternberg.

Bei Verwendung von Kristallviolett-Agar traten bei den von mir geprüften Stämmen in erster Linie Fadenformen auf, die zwar z. T. auch auf Lithiumchlorid-Agar, aber niemals in so schöner regelmäßiger Form zu finden waren. Nach Ablauf verschieden langer Zeiträume, aber mit sehr großer Regelmäßigkeit bei allen geprüften Stämmen, waren zwischen den Fäden des Randteiles der „Tüpfelkolonien nach Kuhn" „Pettenkoferien" zu beobachten. Die Entwicklung des Hauptteiles dieser Formen spielte sich in folgender Weise ab: Die zu langen Fäden ausgewachsenen Bakterien, bei

denen eine Gliederung in Einzelzellen weder im lebenden Zustand noch in den nach Kuhn's (1) Angaben fixierten und gefärbten Präparaten zu erkennen war, befinden sich im Randteil der Kolonien in lebhafter Bewegung. Bei einzelnen der Fäden wird die unregelmäßige, schlängelnde Bewegung zu einer spiralig-kreisförmigen, und zwar entweder durch Störung des Bewegungsmechanismus oder durch Auftreffen auf ein Hindernis (Nachbarfaden). — An dieser Stelle kommt es zu einer spiraligen Aufwicklung (Abb. 1) eines oder mehrerer Fäden. Die Bewegung kommt zum Stillstand, und es findet eine Zusammenballung des Plasmas an einzelnen Stellen der an der Spiralbildung beteiligten Fäden, die sowohl im lebenden als auch im gefärbten Präparat beobachtet werden kann, statt. In einzelnen Fällen kann man direkt eine Lösung und Verschmelzung fast des gesamten Inhaltes zu einer schleimartigen, ungeformten Masse beobachten (Abb. 2). Meist geht jedoch die Entwicklung einen anderen Weg; das Plasma klumpt mehr und mehr zusammen, während die zwischenliegenden Fadenstücke allmählich absterben und sich auflösen, so daß zuletzt nur noch die „Pettenkoferien" übrigbleiben, die z. T. in die eine schleimartige Masse darstellenden Fadenreste eingebettet sind (Abb. 3). Diese „Pettenkoferien" finden sich dann häufig angelagert an erhaltene Fäden, so daß Bilder entstehen, die ein Parasitieren der „Pettenkoferien" an normalen Zellen vortäuschen. In anderen Fällen kann man beobachten, daß das Plasma der Fäden an einem Pol, z. T. unter Vakuolenbildung konzentriert wird, während der Restteil des Fadens allmählich in Lösung geht. Es sei jedoch hier ausdrücklich betont, daß die „Pettenkoferien" immer nur in sehr geringer Zahl auftreten, während der Hauptteil der Zellen in langfädiger F-Form heranwuchs, soweit es sich um die Randzellen handelte, während der Kern der Kolonie besonders nach längerer Bebrütungszeit zum weitaus größten Teil aus normalen Zellen sich zusammensetzte.

Abb. 1. Coli p auf Kristallviolett-Agar 23 Std. bei 37°. Vergr. 1000 ×.

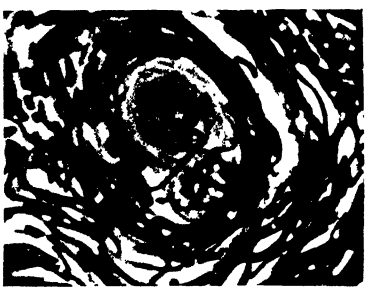


Abb. 2. Coli 2 auf Kristallviolett-Agar 44 Std. bei Zimmertemperatur. Vergr. 1000 ×.

Abb. 3. Coli p auf Kristallviolett-Agar 48 Std. bei 37°. Vergr. 1000 ×.

Auf Lithiumchlorid-Agar mit Zusätzen von 1—3% spielen sich die Vorgänge im allgemeinen anders ab. Hier kann man beobachten, daß schon nach relativ kurzer Zeit (4—20 Std.) die normalen Stäbchenformen des Bact. coli bei geeigneter Wahl der LiCl-Konzentration und der Reaktion des Nährbodens vollkommen durch „Pettenkoferien" ersetzt werden,

die hier im allgemeinen sofort in Form stark vergrößerter kugelförmiger Zellen gebildet werden, in denen beim Altern bzw. bei Verwendung höherer LiCl-Konzentrationen starke Vakuolenbildung und Zerfall in halbmondförmige Abschnitte zu beobachten ist. In derartigen Kulturen sind häufig trotz genauer Durchmusterung des Präparates (Agarausstriche) keine normalen Bakterienzellen und keine C-Formen zu beobachten. Bei Anwendung höherer LiCl-Konzentrationen und alkalischer Reaktion des Nährbodens (p_H 7,2—7,8) traten in der ersten Zeit neben den kugelförmig anschwellenden Formen unregelmäßig geformte, geschwollene Formen auf, die ebenso wie manche Kugelformen im gefärbten Präparat Körnchen enthielten, die mit Giemsa-Lösung deutlich rötliche Färbung aufweisen und z. T. in sehr regelmäßiger Anordnung zu beobachten waren. Diese Formen zeigten ebenso wie die „Pettenkoferien" häufig amöboide Bewegung bzw. Formänderung.

Die Abweichungen von der normalen Zellform waren besonders bei Kulturen, die 24—48 Std. auf LiCl-Agar verschiedener Konzentration und Reaktion gehalten worden waren, im Gegensatz zu den „Pettenkoferien" auf Kristallviolett-Agar nicht nur vereinzelt zu beobachten, sondern es war häufig selbst bei genauer Durchmusterung der Präparate nicht möglich, überhaupt noch unveränderte Zellen festzustellen. Die Schwellung der Zellen nahm hierbei in den ersten Tagen immer mehr zu, es bildeten sich stark vakuolenhaltige Zellen, die Zerfall in Einzelstücke zeigten. Im weiteren Verlauf der Plattenkultur kann man beobachten, wie die großen Formen der „Pettenkoferien" zerfallen und mittelgroßen, häufig unregelmäßig polygonal gestalteten „Pettenkoferien" Platz machen, die bei 7—14 Tage alten Kulturen die Hauptmasse des Kulturmaterials ausmachen, während normale Zellen in derartigen Kulturen häufig selbst bei genauester Durchmusterung des Materials nicht nachzuweisen sind. Die typische „Zystenbildung" wie sie Kuhn bei seinen Formen beobachtet hat, konnte dagegen von mir nicht beobachtet werden, ebensowenig gelang es mir, in den Kulturen C-Formen festzustellen, die nach den Kuhnschen Anschauungen nicht von den „Pettenkoferien" befallen werden, und deshalb neben einzelnen überlebenden Stäbchenformen die Ursache der Entwicklung von normalen Formen bei Überimpfung von Material von LiCl-Platten auf normalen Nähragar sein sollen. Trotzdem war es nicht nur möglich, diese Kulturen ständig weiter zu übertragen, sondern es war möglich, durch Ausstreichen derart veränderten Materials auf normale Nährböden (Bouillonagar, Traubenzucker) innerhalb 24 Std. wieder vollständig normale Stäbchenformen zu erhalten, Tatsachen, die sowohl gegen die Kuhnsche Annahme, daß die „Pettenkoferien" besondere Lebewesen darstellen, als auch gegen die von manchen Autoren vertretene Theorie, daß die „Pettenkoferien" reine Degenerationsformen darstellen, sprechen.

Die von mir durchgeführten Fortführungsversuche, bei denen das Material von LiCl-Agar auf neuen LiCl-Agar in 7—14-tägigen Abständen übertragen wird, haben gezeigt, daß z. T. selbst bei Verwendung von LiCl-Agar mit 3% LiCl selbst nach 5 Monaten ein Absterben oder Eingehen der Kulturen nicht eintritt. Allerdings sind diese Versuche nicht streng beweisend, da Kuhn (1) behauptet, daß neben den „Pettenkoferien" stets Stäbchen oder C-Formen vorhanden sind, und da er andererseits (1924, S. 281) angibt, daß die „Pettenkoferien" von einer bestimmten Größe ab auch ohne Zusammenhang mit den Bakterien zu wachsen vermögen.

Bei meinen Versuchen erhielt ich in Übereinstimmung mit Klieneberger eine bei den meisten Stämmen deutliche Abhängigkeit der Intensität der Bildung der „Pettenkoferien" von der Reaktion des Nährbodens. In Versuchen mit Nährböden gleicher Herstellung, aber verschiedener Reaktion (p_H 6,6; 6,8; 7,2; 7,8) trat die Ausbildung der „Pettenkoferien" sowohl nach Häufigkeit als auch nach Größe bei diesen Stämmen am stärksten auf den alkalischeren Nährböden auf. Allerdings war bei diesen auch gleichzeitig eine höhere Empfindlichkeit der Organismen gegen LiCl zu beobachten, die sich in einem Nichtanwachsen bestimmter Stämme bei Nährböden mit einem p_H-Wert von 7,6 und 7,8 bei 2 und 3% LiCl-Zusatz äußerte. Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu den Kuhn schen Angaben, nach denen die Pettenkoferienbildung am besten auf sauren Nährböden (p_H 6,2—6,6) zu beobachten sein soll. Bei vereinzelten Stämmen war dagegen keine strenge Abhängigkeit der „Pettenkoferienbildung" von der Reaktion der Nährböden zu beobachten, die Ergebnisse schwankten hier außerordentlich stark, da bei mittleren p_H-Werten häufig stärkere „Pettenkoferienbildung" auftrat, als bei stärker saurer oder alkalischer Reaktion und da häufig das Optimum der Bildung von „Pettenkoferien" bei verschiedenen LiCl-Konzentrationen bei verschiedener Reaktion des Nährbodens beobachtet werden konnte. Zu betonen ist hierbei noch, daß diese Erscheinung nicht auf geringe Unterschiede in der Zusammensetzung der Nährböden zurückgeführt werden kann, da zu diesen Reihenversuchen der gesamte Nährboden einer Herstellungscharge entstammte. Die Ergebnisse dieser Beobachtungen lassen sich dahin zusammenfassen, daß die von Kuhn und Sternberg (2) beobachteten Formen (Pettenkoferien) unter geeigneten Bedingungen bei einer größeren Zahl von Stämmen des Bact. coli beobachtet werden konnten, daß aber diese Beobachtungen nicht ausreichen, um die Frage nach der Natur der Pettenkoferien eindeutig zu erklären. Für die eindeutige Erklärung war es notwendig, Bedingungen zu schaffen, die eine objektive Beobachtung und Fixierung der Entwicklungsvorgänge gestatten. Diese Methode glaube ich in den im folgenden Abschnitt besprochenen Versuchen mit der Agarausstich-Kulturmethode gefunden zu haben, die die genaue mikroskopische Kontrolle der Entwicklung der Zellen unter den üblichen Kulturbedingungen gestattet.

Beobachtung im Agarausstichkultur-Präparat.

a) Methodik: Für die mikroskopische Dauerbeobachtung wurde an Stelle der sonst üblichen Methoden des Agar-Adhäsionspräparates, hängenden Tropfens und Federstriches eine besondere Methodik entwickelt, die eine ausreichende Nährstoffversorgung der Organismen bei gleichzeitig möglichst guter Sauerstoffversorgung derselben gestattet. Sowohl bei den Adhäsionskulturen als auch bei den Federstrichen ist die Nährbodenmenge relativ beschränkt, so daß Störungen der normalen Entwicklung eintreten können. Bei den Federstrichen kommt erschwerend hinzu, daß ein Ortswechsel bei den Bakterien im flüssigen Medium eintreten kann und daß infolgedessen die Verfolgung der Entwicklung einer oder mehrerer Zellen hier außerordentlich erschwert ist. Schon eine kurze Unterbrechung der Beobachtung kann dazu führen, daß infolge von Diffusionsströmungen oder Eigenbewegung Zusammenlagerungen eintreten können, die eine Vermehrung vortäuschen können. Hinzu kommt noch, daß die optischen Bedingungen bei diesen Präparaten für die Herstellung von Mikrophotogra-

phien schlecht sind, wie u. a. auch schon von Bayne-Jones und Petrilli (11) hervorgehoben ist. Ich entschloß mich deshalb, die Agarausstichkultur für die Dauerbeobachtung und Mikrophotographie heranzuziehen, nachdem eine große Anzahl von Vergleichsversuchen mit Plattenkulturen gezeigt hatte, daß Unterschiede in der Entwicklung nicht auftreten.

Für die subjektive Untersuchung wurden gewöhnliche Objektträger von 1 mm Dicke verwendet, während für mikrophotographische Zwecke als Objektträger Deckgläser von 24 × 50 mm Größe und 0,13 mm Dicke benutzt wurden. Das Nährbodenmaterial für die Agarausstiche wurde durch Gießen des betr. Nährbodens in Petrischalen erhalten, wobei darauf geachtet wurde, daß die Schichtdicke ca. 1 mm betrug. Zur Übertragung des Impfmaterials wurde die Kuhnsche Ausstichmethode verwendet, indem aus bereits bewachsenen Platten mit Hilfe eines sterilen Spatels Stücke von ca. 1 qcm Fläche ausgehoben und vorsichtig mit der bewachsenen Fläche auf sterile Deckgläser gelegt wurden. Nach kurzem Aufenthalt in einer feuchten Kammer wurde das Agarstück dann mit Hilfe eines zweiten Spatels abgeschleudert und sofort durch ein annähernd gleich großes Stück des sterilen Nährbodens ersetzt. Unter dem Mikroskop wurde kontrolliert, ob ausreichend Bakterien am Deckglas haften geblieben waren und das beschickte Deckglas mit anhaftendem Agar sofort auf den vorbereiteten Objektträger gelegt. Die Objektträger wurden zur Herstellung der Präparate sterilisiert und dann mit einem Glaspinsel ein Vaselinequadrat von etwa 2 : 2 cm aufgetragen. Auf dieses Quadrat wurden vier 1 mm hohe und ca. 2 mm breite sterile Glasstreifen aufgelegt und mit Vaseline gegeneinander und gegen den Objektträger abgedichtet und ebenso wurde die Oberseite der Streifen mit Vaseline bestrichen, so daß nach Auflegen des Deckglases der Agarausstich dem Objektträger und Deckglas fest anlag, und gleichzeitig ein vollkommener Verdunstungs- und Infektionsschutz erzielt wurde. Die Sauerstoffversorgung wurde dadurch sichergestellt, daß ein 4—5 mm breiter freier Raum den Agar auf allen Seiten umgab.

Die Präparate wurden dann fortlaufend mikroskopisch untersucht bzw. zu mikrophotographischen und kinemathographischen Beobachtungen verwendet. Für die Mikro-Photographie und Kinematographie wurden folgende Einrichtungen benutzt:

1. Die Aufsatz-Kamera „Makam" der Firma Leitz mit Periskop. Okular 8 ×. Lichtquelle: 100 Watt Projektionslampe mit Kollektor und Leuchtfeldblende.
2. Die Hegener-Kamera von Zeiss.
3. Der Kinamo für Normalfilm der Fa. Zeiss-Ikon mit dem Beobachtungsaufsatz der Aufsatz-Kamera „Makam" der Fa. Leitz. Lichtquelle: Punktlichtlampe für Gleichstrom, 5 cm Kuhlkuvette mit Aqua dest. bzw. ges. Chininsulfatlösung, 4-mm-Grünfilter der Fa. Zeiss.

Für die Durchführung der kinematographischen Aufnahmen wurde an dem Apparat auf den Einergang des Triebwerkes eine Riemenscheibe von 10 cm Durchmesser aufgesetzt, die von einem Elektromotor über ein Untersetzungsgetriebe angetrieben wurde. Durch Wahl verschiedener Stufenscheiben sowie durch Einschalten eines Regulierwiderstandes war es hierbei möglich, den Bildwechsel und damit die Aufnahmegeschwindigkeit in weitesten Grenzen zu regulieren.

b) Die Entstehung der „Pettenkoferien" aus normalen Stäbchen. Um die Entstehung von „Pettenkoferien" aus normalen Stäbchenformen des Bact. coli zu verfolgen, wurden sowohl subjektive Beobachtungen als auch mikro-kinematographische Untersuchungen durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden Agarausstrichkulturpräparate auf LiCl-Agar hergestellt und entweder subjektiv fortlaufend beobachtet oder mikro-kinematographisch aufgenommen. Es zeigte sich hierbei, daß bei geeigneten Bedingungen (Züchtung bei Zimmertemperatur [20°], 1% LiCl-Zusatz, p_H 7,2—7,4) die Entwicklung der A-Formen sich außerordent-

lich schnell abspielt. Schon 3½ Std. nach Übertragung war der Übergang in typische A-Formen aus den Stäbchen vollzogen, wobei z. T. eine lebhafte Vermehrung während dieser Umwandlung zu beobachten war. Ein typisches Beispiel hierfür bieten die Abb. Taf. I, Fig. 1—6, die Vergrößerungen von Mikro-Filmaufnahmen eines derartigen Films zeigen. Die Veränderungen setzten fast unmittelbar nach der Übertragung der Organismen auf den LiCl-Agar ein. Zuerst beobachtete man eine leichte Schwellung der Organismen, die sich in erster Linie auf den Querdurchmesser der Zellen auswirkte und schon nach Ablauf von 1—1½ Std. zu einer deutlich erkennbaren Verbreiterung der Zellen führte. Im weiteren Verlauf nahmen die Zellen fast Kugelgestalt an, wobei sie häufig noch eine Vergrößerung in der Längsrichtung erfuhren. Während dieses Stadiums wurden die Teilungen z. T. noch vollständig normal durchgeführt, indem die Zellen von 2 Seiten sich einzuschnüren begannen und unter Streckung in der Längsachse in 2 annähernd kugelförmige Zellen zerfielen. Mit fortschreitender Vergrößerung der Zellen verschwand der normale Teilungsmodus mehr und mehr und machte einer anderen Form der Teilung Platz. Die Zellen streckten sich hierbei in einer Richtung und erfuhren gleichzeitig eine einseitige Einwölbung, die zu einer nierenförmigen Gestalt der

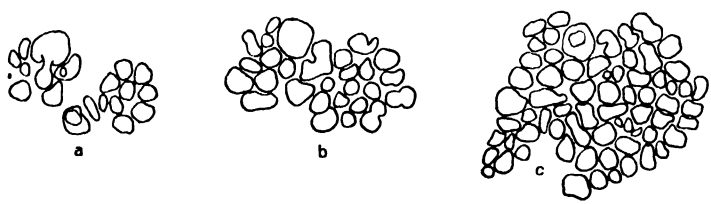


Abb. 4. Coli p auf 2% LiCl-Agar. a) Nach 30 Std.; b) nach 32 Std.; c) nach 34 Std. Bebrütung: Zimmertemperatur. Vergr. 750 ×.

Zelle führte. Unter gleichzeitiger Streckung wurde diese Einschnürung immer tiefer und führte schließlich zum Zerfall in 2 Tochterzellen. Die Teilungsebenen lagen in derartigen Fällen nicht mehr in der Querrichtung der normalen Ausgangszellen orientiert, wie es bei der Teilung normaler Formen bei Bact. coli der Fall ist, sondern sie lagen in beliebiger Orientierung zu den ursprünglichen Zellachsen, also z. T. auch parallel zur ursprünglichen Längsachse. In vereinzelten Fällen konnte man schon in diesem Stadium (2½—5 Std.) nach der Anlage der Kultur die Ausbildung von Vakuolen in den Zellen beobachten (Taf. I, Fig. 5 u. 6). Die Größe der Zellen war hierbei gegenüber den Ausgangszellen erheblich gewachsen. 11 planlos ausgewählte Zellen, die 1 Std. nach der Überimpfung gemessen wurden, zeigten ein Durchschnittsmaß von 3,2 : 1,7 μ mit Grenzwerten von 4,4 : 1,4 und 3,1 : 1,4 μ. Nach Ablauf von weiteren 4 Std. waren aus diesen Zellen 29 Zellen hervorgegangen, von denen eine in der Zeit 4 Std. 30 Min. bis 4 Std. 40 Min. nach Überimpfung sich auflöste, so daß am Ende der Beobachtung (5 Std.) noch 28 Zellen vorhanden waren, die eine Durchschnittsgröße von 5,1 : 4 μ mit Grenzwerten von 7,8 : 4,7 und 3,9 : 3,1 μ besaßen. Die Vergrößerung in der Querrichtung war also erheblich größer als die in der Längsrichtung; im Durchschnitt waren die Zellen in der Querrichtung auf das 2,4fache, in der Längsrichtung auf das 1,6fache vergrößert. Die Vermehrung hörte in diesem Stadium nicht auf, sondern war selbst nach Ablauf von 48 Std. auf Agarausstichkulturen deutlich festzustellen, hier teilten

sich innerhalb eines Zeitraumes von 1½ Std. Zellen, die Größenmaße bis zu 7,1 : 4,8 bzw. 8,3 : 4,2 μ aufwiesen. In diesem Stadium war neben der normalen Zweiteilung, Zerfall in 3 und mehr unregelmäßig geformte Stücke zu beobachten, teilweise auch unter Bildung hantelförmiger Zwischenstufen und unter Auftreten amöboider Formveränderung (Abb. 4). Typisch für ältere Kulturen (24 Std. und älter) war überhaupt das Auftreten sehr unregelmäßiger Teilzellen bei der Teilung selbst bei sehr schneller Vermehrung, das Auftreten amöboider Formveränderung und die Verschmelzung mehrerer Einzelzellen zu scheinbar nackten Plasmagebilden (Abb. 5 u. 6), die weiterhin häufig bis auf geringe zurückbleibende Plasmareste zerfielen. Der Verschmelzung der Zellen zu Syncytien kommt meines Erachtens keine besondere Bedeutung zu. Es muß hier berücksichtigt werden, daß durch

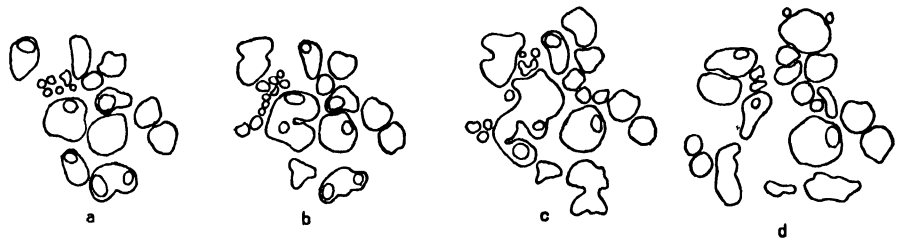


Abb. 5. Coli p auf 2% LiCl-Agar. a) Nach 24 Std.; b) nach 25 Std.; c) nach 26 Std.; d) nach 27 Std. Vergr. 750 ×.

Abb. 6. Coli p auf 2,5% LiCl-Agar. a) Nach 28 Std.; b) nach 29½ Std.; c) nach 31 Std.; d) nach 32½ Std. Vergr. 750 ×.

den Lithiumeinfluß eine weitgehende Veränderung der Plasmastruktur eingetreten ist und daß z. B. durch eine Vergrößerung des Wassergehaltes die Formbeständigkeit der Zelle gestört sein kann. In keinem einzigen Falle konnte bei diesen Untersuchungen das Eindringen von „Körnchen" in die Zellen der Bakterien beobachtet werden, das von Kuhn und Koch und Ziegenspeck behauptet wird. Auch die genaue Durchmusterung der Ausgangsagarkulturen zeigte keinerlei Anzeichen einer Bildung von „Pettenkoferien", so daß in diesem Falle die Annahme bereits infizierter Stäbchen, die vielleicht von Anhängern der Kuhn schen Hypothese gemacht werden könnte, außerordentlich unwahrscheinlich ist. Nach diesen Beobachtungen muß vielmehr als feststehend angenommen werden, daß die Schwellung der Zellen, d. h. der Übergang aus der normalen Zelle in die „Pettenkoferien", einen reinen Einfluß der veränderten Ernährungs- und Umweltsbedingungen darstellt und nicht auf das Eindringen eines besonderen Parasiten zurückzuführen ist.

c) Die Rückführung der „Pettenkoferien" in die Stäbchenform. Die direkte Überführung der Stäbchen in die „Pettenkoferien" machte schon das Vorhandensein eines besonderen Parasiten, der in Form der „Pettenkoferien" neben den Bakterien in normalen Bakterien-

kulturen vorkommen soll, sehr unwahrscheinlich. Kuhn (1) hält aber nach seinen Veröffentlichungen diese Tatsachen nicht für ausreichend, um die Existenz der Pettenkoferien als selbständige Lebewesen zu widerlegen, sondern stellt hierfür weitergehende Forderungen auf, die seiner Meinung nach entscheidend für seine Hypothese sind. Er führt (19, 24) hierzu wörtlich an: „Die Annahme, daß es sich (bei den Pettenkoferien, Anm. d. Verf.) um Entwicklungsformen der Bakterien handelt, hat gewisse Schwierigkeiten. Vor allem steht die Erfahrung im Wege, daß es bisher trotz vieler Bemühungen nicht gelungen ist, die Rückführung der Pettenkoferienformen in B-Formen zu beobachten, denn ich betone ausdrücklich, daß die Erzielung von gewöhnlichen Agarkulturen durch Abstreichen von der Lithiumagarkultur kein Beweis für die Entwicklung der B-Formen aus den Pettenkoferienformen ist."

Er sieht also als experimentum crucis den Nachweis an, daß aus „Pettenkoferienformen" wieder B-Formen geworden sind. In seiner Arbeit von 1931 gemeinsam mit Sternberg weist er auch die Versuche von Klieneberger in dieser Beziehung als nicht beweiskräftig zurück und glaubt sie im Sinne seiner Hypothese erklären zu können. Aus diesem Grunde wurden von mir Rückverwandlungsversuche mit Agarausstrichkulturen, die mit Material von verschieden alten Lithiumagarplatten beimpft wurden, mit Hilfe der Mikrofilmmethode durchgeführt, die im folgenden genauer besprochen werden sollen.

α) Entwicklung von Pettenkoferien von 24 Std. alter Platte (1% LiCl-Agar, p_H 7,4).

Die Kultur wurde mit Hilfe der Kuhnschen Methode auf ein Deckglas übertragen und dieses mit sterilem Nähragar p_H 7,4 beschickt. Die mikroskopische Kontrolle des Ausgangsmaterials zeigte A-Formen bis zu 4,7 μ Länge und 3,7 μ Breite. Die Kultur wurde 7 Std. 20 Min. mikrokinematographisch aufgenommen und der Film ausgewertet. Ausgewertet wurden insgesamt 14 Zellen, die in 5 Gruppen von 1, 3, 3, 1, 4, 2 Zellen zusammenlagen. Mit Ausnahme einer Zelle von 4 : 3,5 μ Größe gingen sämtliche anderen Zellen z. T. unter typischen Formänderungen innerhalb der Beobachtungszeit unter lebhaften Teilungserscheinungen in Stäbchenformen über, die z. T. vollständig normale Größe aufwiesen, z. T. aber die 2—3fache Länge der normalen coli-Stäbchen besaßen und erst innerhalb des Zeitraumes von 8—24 Std. wieder normale Größe annahmen.

Die Teilungsvorgänge nach Ablauf von etwa 5 Std. folgten hierbei so schnell aufeinander, daß es teilweise zu einem Zusammentreffen der einzelnen Zellgruppen kam, die eine genaue Verfolgung der Abstammung der Zellen nicht mehr ermöglichte. Die Entwicklung der Stäbchenformen aus den kugelförmigen oder breitellipsoiden „Pettenkoferien" erfolgte, wie auch schon von Klieneberger angegeben, nicht durch einfache Streckung, sondern z. T. über eigenartig teratologische Formen, einzelne dieser Vorgänge seien hier kurz skizziert (siehe Skizzen, Abb. 7 a—c).

1. (Abb. 7 a) Ausgangsform: Kugel 3,7 μ Durchmesser; nach 1 Std. 20 Min. Schwellung auf 4,7 : 3,5 μ; nach 2 Std. bis 2 Std. 20 Min. Ausbildung eines ringförmigen Gebildes (nach Vakuolenbildung) von 3,5 μ Durchmesser und 1,6 μ Ringbreite; bis 3 Std. Zerfall dieses Kreisringes in 2 Zellen (Halbkreise) von je 3,5 μ Durchmesser und 1,6 μ Breite. Streckung der einen Tochterzelle zu einer Zelle von 9,4 : 1,4 μ nur

schwach gebogen, Querteilung in 2 Zellen von 7,8 : 1,25 μ bis 4 Std. 20 Min. — Einbiegung der zweiten Tochterzelle erster Generation zu einem hufeisenförmigen Gebilde, Querteilung desselben in 2 Zellen bis 4 Std. Anschließend schnelle Weiterteilung bis 6 Std. bereits 13 Stäbchen, bis zu 7,8 μ lang und 1 μ breit.

2. (Abb. 7 b) Ausgangsform: 3,5 : 3,5 μ. Nach 2 Std. Streckung auf 3,9 μ und Knospung in Mitte einer Langseite. 2 Std. 40 Min. typische T-Form 5 μ lang, 2,5 μ breit, Knospe 1,4 μ hoch. 3 Std. 20 Min. Querwachstum an einem Pol 7 μ lang, 1,6 μ breit, Mittelknospe 1,5 μ hoch, Querbalken 3,1 μ lang. 3 Std. 40 Min. Zerfall in 3 Zellen, 3,5 : 1,6 μ, 3,1 : 1,6 μ und T-förmige 3,4 : 1,6 μ Querbalken 3,1 μ lang. Übergang der letzteren in Y-Form, 4 Std. Abschnürung einer Kugelzelle 1,6 μ Durchmesser. Schnelle Weiterteilung.

3. (Abb. 7 c) Ausgangsform: 3,3 : 3,1 μ. Nach 2 Std. leicht nierenförmig 4 : 3,1 μ, nach 3 Std. typische Nierenform 5,6 : 2,9 μ, nach 3 Std. 20 Min. Kreisringform offen 4,7 μ Durchmesser. 1,6 μ Breite, 4 Std. Zerfall in 2 Zellen 3,75 : 1,6 μ und 4,0 : 1,6 μ; 4 Std. 40 Min. Abscheidung je einer Kugelzelle von ca. 1,4 μ Durchmesser an einem Pol des Stäbchens; 5 Std. Zerfall in insgesamt 5 Stäbchen von 1,25 μ Breite und 23 bis 3,5 μ Länge.

β) Entwicklung von Pettenkoferien von 48 Std. alter Platte (LiCl-Agar 1%, p_H 7,2).

Von dem Material wurde wie bei a) eine Agarausstichkultur auf normalen Nähragar von p_H 7,4 angelegt und mikrokinematographisch während eines Zeitraumes von 5 Std. beobachtet. Das Ausgangsmaterial enthielt A-Formen verschiedener Größe bis zu Formen von 10 : 6,3 μ neben kleinen Formen bis zu 1,6 : 1,6 μ, also fast normalen Größen. Innerhalb der Beobachtungszeit zeigten nur die kleineren Formen (bis zu 3,5 : 3,5 μ) Entwicklung zu Stäbchen, während die größeren Formen nur zu Vakuolen- und Kreisringbildung übergingen. Die Beobachtung mußte nach Ablauf von 5 Std. unterbrochen werden, da sehr reichliche Stäbchenbildung eingesetzt hatte, die eine Weiterverfolgung der Entwicklung unmöglich machte. Bei der Entwicklung einer Zellgruppe (Taf. 1, Fig. 7—12) konnten hierbei typische Zellverschmelzungen beobachtet werden, die bei den sich lebhaft vermehrenden und in Stäbchenform übergehenden Organismen auftraten und an denen die große Zelle von 10 : 6,3 μ beteiligt war. Bei der Entwicklung war hier teilweise typische amöboide Formveränderung und Ausbildung von teratologischen Formen zu beobachten. Den beobachteten Zellverschmelzungen kommt auch hier, wie schon oben ausgeführt wurde, keine besondere Bedeutung zu.

Abb. 7. Übergang von Pettenkoferien in Stäbchenformen. Vorzüchtung 24 Std. auf 1% LiCl-Agar, p_H 7,4. Erläuterungen siehe Text. Vergr. 650 ×.

γ) Entwicklung von Pettenkoferien von 5 Tage alter Platte (LiCl-Agar 1%, p_H 7,4).

Das Material wurde wie bei a) auf normalen Agar in Form der Ausstichkultur überführt und 7 Std. 20 Min. mikrokinematographisch beobachtet. Das Ausgangsmaterial bot das typische Bild älterer LiCl-Kulturen; es fanden sich Pettenkoferien verschiedener Größe (bis zu etwa 4 : 4 μ) und größere

Syncytien, an denen z. T. noch die Bildung durch Verschmelzung von Zellen deutlich zu erkennen war und die eine Größe bis zu 14 : 9 μ bei unregelmäßiger Form aufwiesen. Bei diesem Material, das bereits 5 Tage bei Zimmertemperatur auf der Platte sich befand, mußten sich, da es sich um Material der 12. Plattenpassage auf LiCl-Agar gleicher Zusammensetzung handelte, nach den Anschauungen Kuhns die Pettenkoferien in guter Entwicklung finden und bereits Gelegenheit gehabt haben, in den Zellen zu voller Entwicklung zu kommen. Eine Regeneration zu Stäbchen durfte hier entsprechend den Kuhnschen Ansichten nur von den nicht infizierten C-Formen erfolgen. Selbst die genaueste mikroskopische Kontrolle des Materials ergab aber keinerlei Anhaltspunkte für das Vorhandensein von C-Formen, sondern auch hier wieder wuchsen ca. 50 % der Pettenkoferien, und zwar sowohl der Einzelformen als auch der Syncytien innerhalb eines Zeitraumes von 7 Std. 20 Min. zu typischen Stäbchenformen aus (Taf. II, Fig. 1—11). Der Übergang in die Stäbchenform erfolgte bei diesen alten Formen in verschiedener Weise; während einzelne Formen über die durch Streckung entstandene Nierenform oder Hakenform hinweg unmittelbar in Stäbchen übergingen, die sich weiterhin durch normale Zellteilung vermehrten, verlief die Entwicklung bei anderen Zellgruppen in wesentlich anderer Form. Bei den Syncytialgruppen war zuerst eine Verschmelzung der zu Beginn z. T. noch erkennbaren Zellformen zu einer formlosen amöboiden Plasmamasse zu beobachten, in der unter ständiger amöboider Formänderung vakuolenartige Bildungen auftraten, die den plötzlichen Zerfall in eine größere Zahl von Stäbchenformen, z. T. unter kurzzeitiger Erhaltung eines amöboiden Restkörpers einleiteten. Die Stäbchenformen zeigten dann normale Teilung und Vermehrung. Bei anderen Formen trat die Bildung des Syncytiums erst während der Beobachtungszeit ein; hier kam es z. T. unmittelbar nach der Verschmelzung zur teilweisen Aufgliederung in Stäbchenformen, z. T. waren die Syncytialgebilde bis zum Ablauf der Beobachtungszeit noch nicht in der Aufgliederung begriffen, oder sie wurden von den lebhaft sich vermehrenden Stäbchengruppen eingeschlossen. Ein Teil der Formen zeigte keine Vermehrung, sondern starb allmählich ab. Die Syncytialbildung und der plötzliche Zerfall des Syncytiums unter Erhaltung eines amöboiden Restkörpers sind Erscheinungen. die wahrscheinlich als ausgeprägtere Stadien der Entwicklung der teratologischen Formen der jüngeren LiCl-Kulturen aufzufassen sind.

Diskussion der Versuchsergebnisse.

Durch meine Untersuchungen konnten die Beobachtungen von Kuhn (1) u. a. Autoren bestätigt werden, daß bei Züchtung von Bact. coli auf Nährböden, die LiCl oder Kristallviolett enthalten, Formen auftreten, die sich von den normalen Stäbchenformen weitgehendst unterscheiden. Es konnte sowohl das Auftreten von Fadenformen als auch der von Kuhn als „Pettenkoferien" gedeuteten vergrößerten Formen festgestellt werden. Die „Pettenkoferien" zeigten z. T. Vakuolenbildung und amöboide Formänderung. Es zeigte sich keine strenge Abhängigkeit der Stärke des Auftretens derartiger Formen von der Reaktion des Nährbodens; die einzelnen geprüften Stämme zeigten hier z. T. verschiedenes Verhalten. Bei der Mehrzahl der Stämme konnte allerdings die Beobachtung von Kliene-

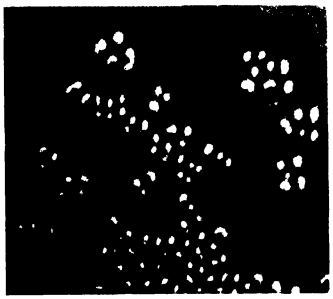
berger (10) bestätigt werden, daß die Ausbildung unter sonst gleichen Bedingungen mit zunehmender Alkalität des Nährbodens zunimmt, einzelne Stämme zeigten aber das Maximum der „Pettenkoferien"-Bildung bereits bei einem p_H-Wert des Nährbodens von 7,0. Diese Beobachtung vermag die widersprechenden Angaben von Kuhn und Klieneberger über den günstigsten p_H-Wert für die Ausbildung der „Pettenkoferien" zu klären, ohne daß bisher eine Erklärung für die Tatsache des verschiedenen Verhaltens der einzelnen Stämme gegeben werden kann.

Die Deutung der „Pettenkoferien" als selbständige Organismen im Sinne Kuhns muß dagegen auf Grund meiner Beobachtungen, insbesondere auf Grund der unter mikrokinematographischer Kontrolle durchgeführten Umwandlungsversuche von normalen Stäbchen in Pettenkoferien und der Rückverwandlung von Pettenkoferien in normale Stäbchenformen als widerlegt angesehen werden. Nach Kuhn und Sternberg (2) müßte der Umwandlung von Stäbchen in Pettenkoferien eine Infektion der Bakterien durch Pettenkoferien vorangehen, die erst eine Entwicklung der „Pettenkoferien" in den Bakterien ermöglicht. Bei keiner meiner Beobachtungen konnte ich das von Kuhn und Sternberg und von Koch und Ziegenspeck und Koch (6) behauptete Eindringen derartiger Körnchen in die Bakterienzelle beobachten; vielmehr begann die Entwicklung der „Pettenkoferien" aus den normalen Zellen ohne irgendwelche Erscheinungen, die auf ein derartiges Eindringen hindeuten, bereits 1—2 Std. nach Übertragung von 24 Std. altem Zellmaterial auf LiCl-Agar z. T. bei sämtlichen beobachteten und im Filmbild festgehaltenen Zellen vollkommen gleichmäßig. Schon diese Tatsache läßt eine Erklärung im Sinne der Kuhnschen Hypothese kaum noch zu, da man dann annehmen müßte, daß bereits sämtliche übertragenen Zellen vorher mit „Pettenkoferien" infiziert waren. Diese Annahme ist kaum haltbar, da das Material von Kulturen stammte, die auf normalen Nährböden keine „Pettenkoferien" bildeten.

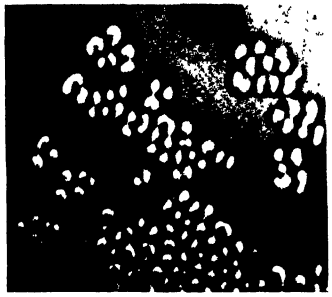
Eine vollständige Widerlegung der Kuhnschen Hypothese bilden aber die Rückverwandlungen von typischen „Pettenkoferien" in normale Stäbchenformen unter Kontrolle durch den Mikrofilm. Diese Rückverwandlung stellt nach Kuhns eigener Ansicht das experimentum crucis für seine Hypothese dar. Die Rückverwandlung war nicht nur bei solchen Pettenkoferien möglich, die noch eine feste Zellform besaßen, bei denen also nach Kuhn und Sternberg das Bakterium noch nicht vollständig durch die „Pettenkoferien" zerstört zu sein brauchte, sondern auch bei solchen, die das Merkmal der aus dem „Bakterienleib geschlüpften Pettenkoferie", nämlich die amöboide Formveränderung aufwiesen. Gerade hierauf legt aber Kuhn in seiner Kritik der Klieneberger schen Arbeit den Hauptwert. Die Mikrofilmaufnahmen der 5 Tage alten LiCl-Agar-Kultur ergeben den eindeutigen Beweis, daß auch diese Formen unmittelbar wieder in die normale Stäbchenform übergehen können, daß sie also Entwicklungsformen der Bakterien darstellen. Hierdurch ist der Beweis erbracht, daß die sog. „Pettenkoferien" nicht selbständige Lebewesen darstellen und daß auch kein Zusammenhang zwischen diesen Formen und dem d'Hérelle schen Phänomen, im Sinne von Kuhn und Sternberg bestehen kann. Die „Pettenkoferien" stellen unter dem Einfluß veränderter Umweltsbedingungen auftretende teratologische Formen dar,

1

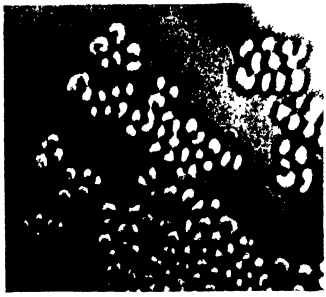
2



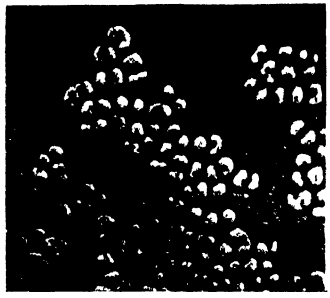
3



4

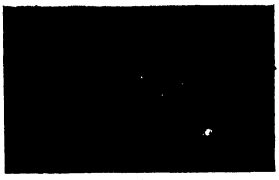


5



6

7



8

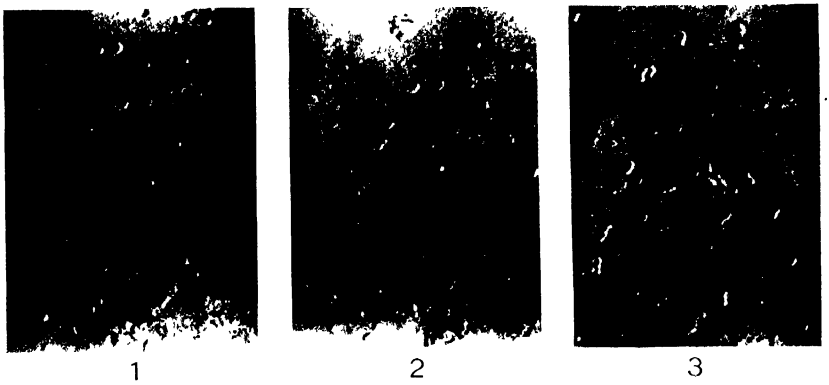
9

10

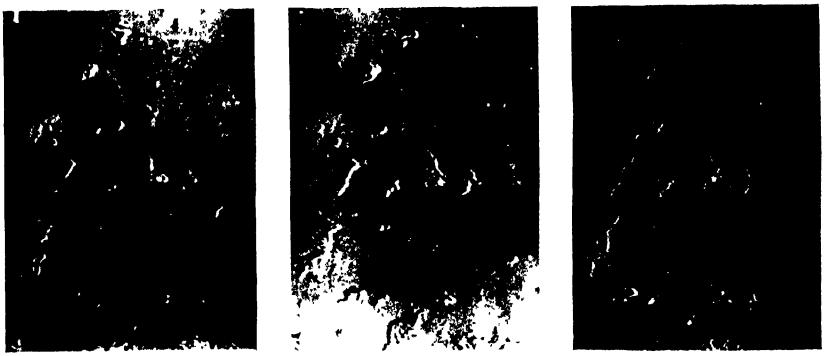
11

12

Verlag von Gustav Fischer in Jena

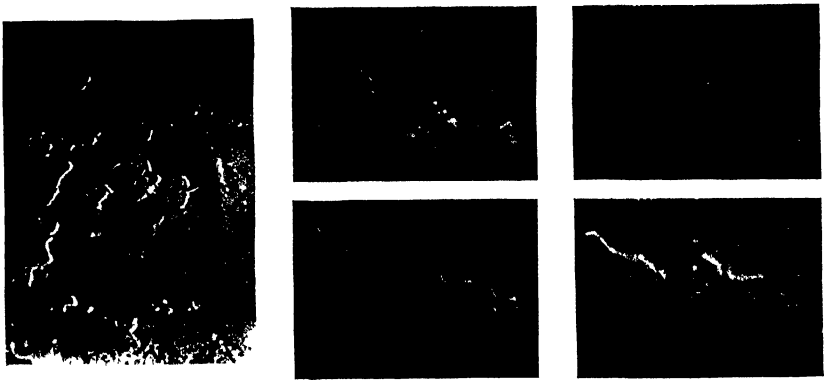


1 2 3



4 5 6

8 9



7 10 11

Verlag von Gustav Fischer in Jena

die unter normalen Kulturbedingungen wieder in die Normalform übergehen, denen also auch keinerlei Sonderstellung etwa im Sinne der pleomorphistischen Kreislauftheorien zukommt. Die Bezeichnung dieser Form mit einem besonderen Namen muß deshalb abgelehnt werden.

Zusammenfassung.

1. Die Beobachtungen über das Auftreten teratologischer Formen bei Züchtung von Bacterium coli auf Lithiumchlorid- bzw. Kristallviolett-haltigen Nährböden konnte bestätigt werden; die Formen zeigten z. T. Vakuolenbildung und amöboide Formänderung.

2. Die Deutung dieser Formen als selbständige Lebewesen im Sinne der Kuhnschen Hypothese konnte dadurch widerlegt werden, daß es möglich war, die unmittelbare Rückverwandlung dieser Form, auch solcher mit amöboider Formänderung, zu normalen Stäbchenformen mikrokinematographisch nachzuweisen.

3. Die Formen stellen nicht Kreislaufformen im Sinne pleomorphistischer Theorien dar, sondern sind als teratologische Formen, die durch veränderte Umweltsbedingungen hervorgerufen sind, anzusehen.

4. Die Bezeichnung „Pettenkoferien" für diese Formen ist deshalb unnötig und irreführend.

Literaturverzeichnis.

1. Kuhn, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 93. 1924. — 2. Kuhn und Sternberg, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 121. 1931. — 3. Hausam, Dissert. Kiel. 1930. — 4. Henneberg, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932. — 5. Ziegenspeck und Wilke, Bot. Archiv. Bd. 30. 1930. — 6. Ziegenspeck und Koch, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 71. 1927. — 7. Vamoscher, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 127. 1933. — 8. Stapp und Zycha, Archiv f. Mikrobiol. Bd. 2. 1931. — 9. Hussong, Journ. of Bact. Vol. 25. 1933. — 10. Klieneberger, Ergebnisse der Hygiene. Bd. 11. 1930. — 11. Bayne-Jones and Petrilli, Journ. of Bact. Vol. 25. 1933.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1—6. Übergang von coli in Pettenkoferien auf 1% LiCl-Agar, ph 7,4. Vergr. 650 ×.

Fig. 1. Nach 40 Min.
Fig. 2. Nach 70 Min.
Fig. 3. Nach 90 Min.
Fig. 4. Nach 2 Std.
Fig. 5. Nach 3 Std.
Fig. 6. Nach 3½ Std.

Abb. 7—12. Übergang von Pettenkoferien in Stäbchenformen. Vorzüchtung auf 1% LiCl-Agar, ph 7,2. 48 Std. Vergr. 650 ×.

Fig. 7. Nach 50 Min.
Fig. 8. Nach 100 Min.
Fig. 9. Nach 2 Std.
Fig. 10. Nach 3 Std.
Fig. 11. Nach 4 Std.
Fig. 12. Nach 4 Std. 40 Min.

Tafel II.

Fig. 1—7. Coli C_5 Vorzüchtung 5 Tage auf 1% LiCl-Agar, ph 7,4. Mikrofilmaufnahme von Bouillonagar. Vergr. 160 ×.

Fig. 1. Nach 20 Min.
Fig. 2. Nach 60 Min.
Fig. 3. Nach 2 Std.

Fig. 4. Nach 3 Std.
Fig. 5. Nach 4 Std.
Fig. 6. Nach 5 Std.
Fig. 7. Nach 6 Std.
Fig. 8—11. Übergang von Pettenkoferien in Stäbchenform. Vorzüchtung auf 1% LiCl-Agar, ph 7,4. 5 Tage. Vergr. 650 ×.
Fig. 8. Nach 60 Min.
Fig. 9. Nach 3 Std.
Fig. 10. Nach 4 Std.
Fig. 11. Nach 4 Std. 45 Min.

Nachdruck verboten.

Two new species of Bacteria found in spoiled "Kamaboko"[1].

[Laboratory of Bacteriology, Imperial Fisheries Institute, Tokyo, Japan.]

By **Yukio Goto** and **Masao Kimata.**

These new species of bacteria were isolated from spoiled "Kamaboko" when we have studied on it.

The tests were carried out in accordance with the Descriptive Chart of the Society of American Bacteriologists (1925). All works were carried out at 28° C.

Micrococcus solidus n. sp. (Index number: 3001—51120—0222).

Brief Characterisation	Remarks
Microscopic features:	
Form: 3 (micrococci)	Usually occurs in irregular masses.
Endospores: 0 (absent)	
Flagella: 0 (absent)	The organism was non-motile.
Gram stain: 1 (positive)	
Miscellaneous biochemical reactions:	
Biologic relationship: 5 (saprophytic)	
Relation to oxygen: 1 (strict aerobe)	
Gelatin liquefaction: 1 (positive)	Stratiform liquefaction.
In nitrate media: 2 (nitrite but no gas)	
Chromogenesis: 0 (none)	
Carbohydrate reactions:	From mannit, glycerine, salicin and raffinose produces acid.
Diastatic action: 0 (negative)	
Glucose: 2 (acid without gas)	
Lactose: 2 (acid without gas)	
Sucrose: 2 (acid without gas)	
Vegetative cells:	
Diameter: 3 (over 1 μ)	The mean of 10 measurements was found to be 1,2 μ
Length: 1 (less than 2 diameters)	
Chains: 0 (absent)	
Capsules: 0 (absent)	
Cultural features:	
Agar stroke:	The agar stroke was echinulate, raised, white, and opaque.
Growth: 1 (abundant)	
Lustre: 2 (dull)	
Surface: 2 (contoured)	
Agar colonies: 6 (irregular)	Agar colonies were flat, cloudy, opaque, white, lobate or auriculate, and granular.
Gelatin colonies: 3 (irregular)	Gelatin colonies were concave, cloudy, white, and lobate. Liquefaction crateriform.

[1]) The Japanese food matter called "Kamaboko" is prepared by steaming fish paste which is seasoned with salt, sugar and mirin.

Milk:	After coagulation, litmus milk was slowly peptonized: litmus reduced.
Acid: 1 (sufficient for curdling)	
Rennet curd: 0 (absent)	
Peptonization: 1 (present)	
Indol production: 0 (negative)	
Optional data:	
Potato: thick, dry, whitish-gray, cloudy	
Broth: slight turbid with pellicle and scanty sediment (viscid)	

It possesses all the characteristics of the genus Micrococcus as given by Bergey (1930). But it is quite different from any one of genus Micrococcus which does not produce chromogenesis and liquefies gelatin. As it appears not to have been described previously, the name Micrococcus solidus is proposed.

Rhodococcus puniceus n. sp. (Index number: 3001—51027—1000).

Brief Characterisation	Remarks
Microscopic features:	
Form: 3 (micrococci)	Usually occurs singly, in pairs, and in irregular masses.
Endospores: 0 (absent)	
Flagella: 0 (absent)	The organism was non-motile.
Gram stain: 1 (positive)	
Miscellaneous biochemical reactions:	
Biologic relationship: 5 (saprophytic)	
Relation to oxygen: 1 (strict aerobe)	
Gelatin liquefaction: 0 (negative)	Filiform growth.
In nitrate media: 2 (nitrite but no gas)	
Chromogenesis: 7 (red)	
Carbohydrate reactions:	
Diastatic action: 1 (positive)	
Glucose: 0 (no acid)	
Lactose: 0 (no acid)	
Sucrose: 0 (no acid)	
Vegetative cells:	
Diameter: 2 (between 0,5 and 1 μ)	The mean of 10 measurements was found to be 0,9 μ
Length: 1 (less than 2 diameters)	
Chains: 0 (absent)	
Capsules: 0 (absent)	
Cultural features:	
Agar stroke:	The agar stroke was filiform, opaque,
Growth: 2 (moderate)	reddish gray (light pink) and raised.
Lustre: 1 (glistening)	
Surface: 1 (smooth)	
Agar colonies: 2 (circular)	Agar colonies were small circular (under 3 mm), smooth, convex, glistening, entire and finely granular.
Gelatin colonies: 1 (punctiform)	Gelatin colonies were rose-red, glistening, smooth, convex, entire, and finely granular.
Milk:	The milk was becoming alkalin.
Acid: 0 (no acid)	
Rennet curd: 0 (absent)	
Peptonization: 0 (absent)	
Indol production: 0 (negative)	
Optional data:	
Potato: very scanty growth, light pink	
Broth: slight turbid with sediment, no pellicle	

It possesses all the characteristics of the genus Rhodococcus as given by Bergey (1930) and, although closely allied to R. cinnebereus (Flügge) Holland, it differs in its action on starch. As it appears not to have been described previously, the name Rhodococcus puniceus is proposed.

Summary.

Two new species of Bacteria, Micrococcus solidus, and Rhodococcus puniceus, are described.

Literature cited.

Bergey, D. H., Manual of Determinative Bacteriology. Third Ed., Baltimore, 1930. Committee of Bacteriologic Technic of the Society of American Bacteriologists. (Journ. of Bact. Vol. 10. 1925. p. 315.)

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Vaucheriatuffe.

[Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität München.]

Von **J. Wallner.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die bisherigen Untersuchungen des Verf.s an südbayerischen Tufflokalitäten (Wallner 1933, 1934) lassen erkennen, daß die Gattung Vaucheria mancherorts reichlich an der Kalksedimentation beteiligt ist. Alle südbayerischen Vorkommen von Vaucheriakalk werden indessen an Ausdehnung und Mächtigkeit weit übertroffen durch einige Lager im klassischen Tuffgebiet Paterzell westlich von Weilheim (Oberbayern)[1]). Es liegt nun die Frage nahe, welche Ursachen gerade bei Paterzell zu einer derartig auffallenden Anhäufung von Vaucheriakalken führten. Diese Frage wollen wir im folgenden beantworten:

Die über dem anstehenden Flinz zutage tretenden Quellbäche enthalten in einer bestimmten Bewuchsfolge angeordnet eine reiche kalkfällende Flora von Algen und Moosen, auf die einzugehen der Verf. schon an anderer Stelle Gelegenheit hatte. Hier interessieren uns ausschließlich jene Quellbäche, die infolge der reichlichen phytogenen Kalkfällung eine Erhöhung ihres Laufniveaus auf lange Strecken hin zu verzeichnen haben. Durch alljährliches Ausschaufeln muß ihr Bett vertieft und reguliert werden, um Überschwemmungen vorzubeugen. Es ist klar, daß verhältnismäßig langsamwüchsige Pflanzen, wie Oocardium stratum z. B., in solchen Gebieten beständigen Eingriffes durch Menschenhand bald verschwunden sein werden. In der Tat zeigen die in Rede stehenden Bäche nur mehr jene Glieder der ursprünglichen Bewuchsfolge, die das stärkste Flächenwachstum in Richtung des strömenden Wassers aufweisen; es handelt sich dabei um die Algen Vaucheria geminata Decandolle und Plectonema phormidioides Hansgirg (Cyanophycee) (Hansgirg 1887).

[1]) Die Paterzeller Landschaft weist außer den berühmten Eibenbeständen eine interessante tuffbildende Mikroflora auf, die bisher aber ganz unbeachtet blieb; es braucht nur erwähnt zu werden, daß sich innerhalb der Eibenbestände 3 Standorte der kalkablagernden Desmidiacee Oocardium stratum vorfinden.

Am Standort ist zu erkennen, daß die reichliche Anhäufung von Vaucheriakalken immer mit einem ausgedehnten Vorkommen von Plectonema phorm. zusammenfällt. Auf Grund der strukturellen Unterschiede der von beiden Algen gebildeten Kalke kann man an den Aufschlüssen des Paterzeller Tuffbruches die angegebene Vergesellschaftung auch im fossilen Zustande feststellen.

Die Vaucheriapolster der Bachläufe bei Paterzell entwickeln sich aus „Anflügen" von lebhaft grünen, wirr durcheinanderlaufenden Vaucheriaschläuchen, die sich an den Bachrändern vorfinden (Abb. 1, rechts). Durch schnelles Wachstum der Thallusfäden und starke Verkalkung erhöhen sich

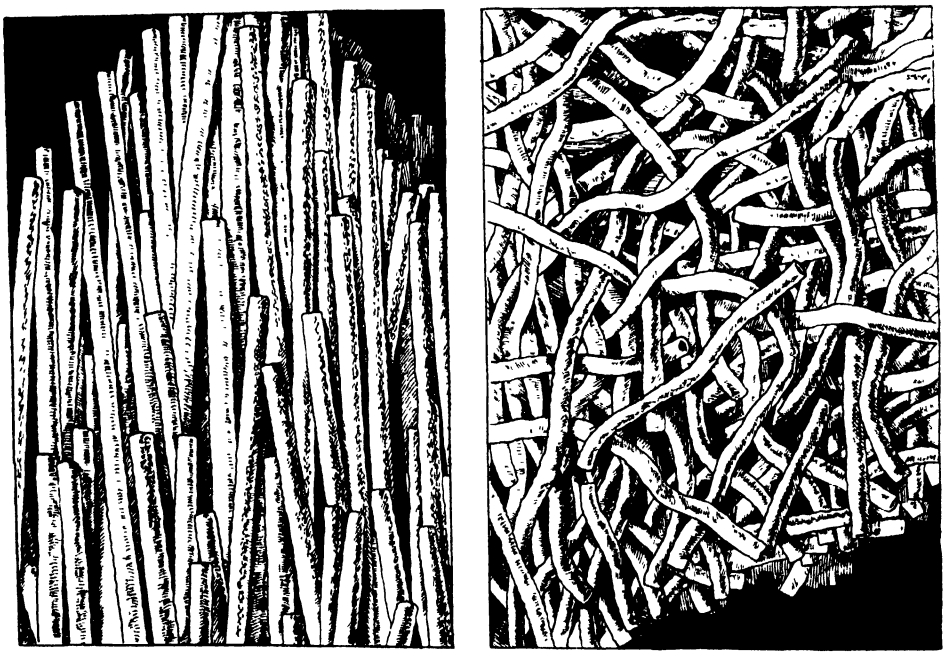


Abb. 1. Fossiler Vaucheriakalk aus den Tuffbruchen von Paterzell. Beide Abbildungen zeigen Kalkröhren, deren Wand aus einem dichten Kalzitkristallbelag bestehen. In einem Fall (linkes Bild!) sind die Röhren parallel gerichtet, was ein Zeichen dafür ist, daß die betreffende Tufflage in schnell strömendem Wasser eines Quellbaches gebildet wurde. Das Bild rechts dagegen, zeigt wirr durcheinandergeflochtene Röhren, gebildet von Thallusfäden aus dem Kapillarwasserbereich eines Bachrandes. Durchschnittliche Breite der Röhren 120 μ.

diese Primärpolster bald und rücken aus der Zone des Bachrandes, in der sie nur mit Kapillarwasser versorgt waren, in die Zone des schnell strömenden Bachwassers. Die Folge davon ist, daß die einzelnen Thallusfäden zueinander parallel und in Richtung der Strömung orientiert werden (Abb. 1, links). Besonders deutlich bildet sich die Parallelanordnung auf der konvexen, von der vollen Wucht des strömenden Wassers getroffenen Seite der Polster aus (Abb. 2, B 1 bei V 2), während die geschützte Konkavseite und, wie aus der vorigen Erörterung hervorgeht, die Basalteile der Polster das beschriebene Fadengewirr aufweisen (V 1 in Abb. 2 B 1). Die Gestalt eines jungen, erst in die Strömung geratenen Vaucheriapolsters, gibt Abb. 2, B 1,

im Längsschnitt wieder. Die auf Grund der Assimilationsleistung bedingte Kalkfällung beginnt erst ein kleines Stück hinter der Spitzenregion der einzelnen Schläuche, so daß das Apikalwachstum in keiner Weise gestört wird. Die Lager strecken sich also in Richtung der Strömung. Diese Apikalverlängerung kann jedoch zum Stillstand gebracht werden, wenn nach Trockenperioden eine Verringerung der Wasserschüttung eintritt. Neben dem „physiologischen Fällungskalk" macht sich dann noch der durch reichliche Verdunstung des Wassers bedingte Kristallniederschlag bemerkbar.

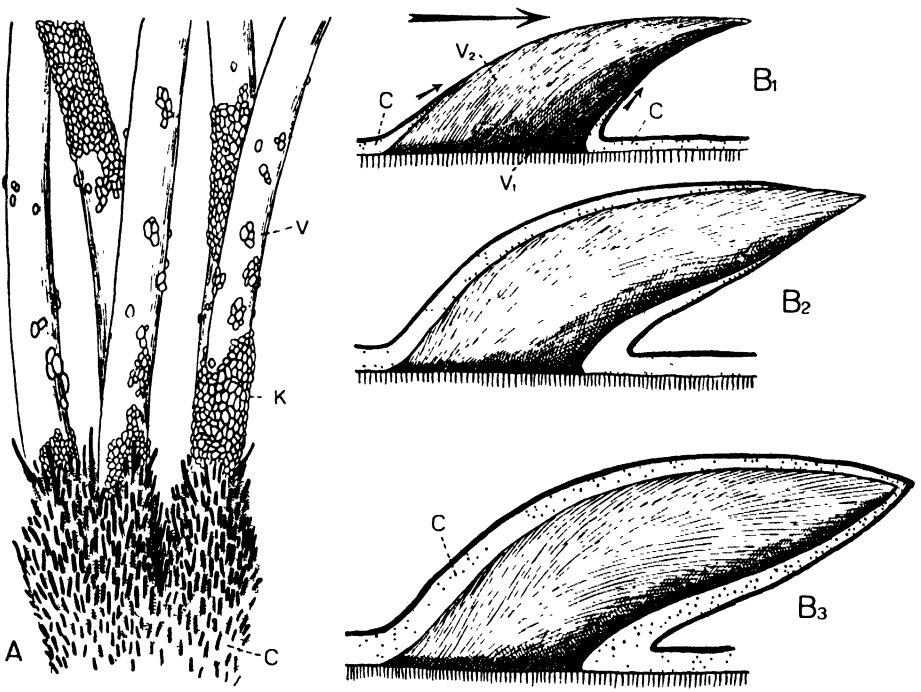


Abb. 2. Abbildung A zeigt 5 Vaucheriaschläuche mit Teilen der von ihnen gebildeten Kristallmäntel (bei K z. B. noch ziemlich vollständig erhalten, in anderen Teilen jedoch bei der Präparation abgefallen). Unten erkennt man ein Lager der Cyanophycee Plectonema phormidioides, welches an den Vaucheriafäden emporwächst und diese mit einer dichten Kalkkruste einschließt. Breite der Plectonemafäden 6—9 μ. Inhalt der Vaucheriaschläuche der Übersichtlichkeit wegen fortgelassen. Abbildungsreihe B stellt Einhüllungsstadien eines Vaucheriapolsters durch Plectonema phormidioides schematisch im Längsschnitt dar. Der Pfeil bei B_1 oben gibt die Richtung des strömenden Wassers an. Gestrichelt die Vaucheria-, punktiert die Plectonema-Kalke.

Er verursacht die Einhüllung der Polsterspitzen, was ein Absterben der Fäden nach sich zieht, wenn nicht bald die ursprüngliche Wasserschüttung der Quelle wieder zum Einsatz kommt.

Der „physiologische Fällungskalk" von Vaucheria geminata besteht aus Kristallmänteln, welche die Thallusfäden umhüllen, was mit den Beobachtungen von Kolkwitz und Kolbe an Vaucheria de Baryana übereinstimmt (Kolkwitz und Kolbe 1923). Die Kristallhüllen sind in der Spitzenregion noch wenig dicht und die Kristalle fast alle noch sehr klein; ihre Zahl und ihre Größe nimmt aber spitzenwegwärts so-

lange zu, bis die Umhüllung vollkommen geschlossen ist. Aus fossilen Vaucheriatuffen ist die organische Komponente (Reste der Zellwand und des Zellinhaltes) verschwunden. Übrig bleiben nur mehr jene erwähnten, aus zahlreichen Kalzitkriställchen bestehenden Röhren, deren Lumina den Raum der Thallusfäden abbilden.

Die oben schon genannte Cyanophycee Plectonema phormidioides kommt nun in den Bächen neben den jungen emporwachsenden Vaucheriapolstern vor und bildet schnellwüchsige, weithin flächig ausgedehnte Lager von grauvioletter Färbung. Diese Lager bestehen aus dicht nebeneinanderliegenden Zellfäden, die ebenso, wie wir dies für Vaucheria geminata erwähnt haben, in kapillar- oder schwachströmendem Wasser nach allen Richtungen des Raumes hin sich ausdehnen, während in stark fließendem Wasser sofort eine Orientierung in Richtung der Strömung stattfindet. Auch diese Cyanophycee fällt nun Kalk, jedoch sind die Kristalle außerordentlich klein (ca. 3—10 μ groß) und liegen in 2—3 Schichten übereinander. Durch die geringe Breite der Plectonemafäden, ihre dichte Lagerung und die Kleinheit des Kristallgefüges erklärt sich ein schon äußerlich leicht erkennbarer Unterschied der Kalkgebilde unserer beiden Algen. Der Plectonemakalk läßt mit unbewaffnetem Auge kaum eine Struktur erkennen, während beim Vaucheria geminata-Kalk sofort deutlich zu sehen ist, ob die Fäden wirr verflochten oder parallel angeordnet sind. Plectonemakalk gehört zu unseren druckbeständigsten bayerischen Tuffarten. Vaucheriakalke sind dagegen sehr leicht brüchig; besonders bei Parallelfaserung werden an vielen Standorten durch das strömende Wasser Thallusschollen abgerissen und fortgeführt. Daß letzteres nun nicht auch bei dem Paterzeller Vorkommen stattfindet, geht auf folgende Eigentümlichkeit zurück:

Die Cyanophycee Plectonema phormidioides nimmt bald von den wachsenden Vaucheriapolstern ihrer Umgebung Besitz, und zwar dadurch, daß sie (Abb. 2, B 1 in Richtung der kleinen Pfeile) von den Basalstellen ausgehend, auf die Vaucheriapolster hinaufwächst und diese mit dichten Kalken in 1—2 Monaten vollkommen einhüllt (Abb. 2, A, B 2, B 3). Die Vaucheriafäden sterben ab, während die Cyanophycee weiterwächst und die von ihr gebildete Kalkhülle durch immer neue Kristallschichten verdickt. Bei öfterem Besuch des Standortes kann man sich davon überzeugen, daß in 1—2 Mon. durch einen „vorrückenden" Plectonemabewuchs ganze Vaucheriabezirke der Bachläufe befallen und eingeschlossen werden. Auf diese Weise wird die reichliche Kalkproduktion von Vaucheria bei Paterzell vor der Zerstörung durch die Kraft des strömenden Wassers bewahrt. Zur Bestimmung der Vaucheriaart brachte der Verf. einige Proben vom Standort nach München. Nach 10 tägiger Kultur in 4 proz. Rohrzuckerlösung hatten sich reichlich Antheridien und Oogonien gebildet, deren Gestaltung eindeutig auf die Art Vaucheria geminata Decandolle hinwies.

Herrn Dr. E. Esenbeck danke ich auch an dieser Stelle für die Kontrolle meines Bestimmungsresultates.

Lichtbilder der hier beschriebenen Kalke und ihrer pflanzlichen Bildner sind in einer im Literaturverzeichnis angekündigten Abhandlung des Verf.s und in einigen anderen in Vorbereitung befindlichen Arbeiten enthalten.

Zusammenfassung.

Die Cyanophycee Plectonema phormidioides überdeckt, bei Paterzell (Oberbayern), die durch Vaucheria geminata gebildeten weichen Kalke mit dichten Kalkkrusten, wodurch die wenig erhaltungsfähigen Vaucheriakalke vor der Zerstörung durch das strömende Wasser bewahrt werden.

Literatur.

Hansgirg, A., Algarum aquae dulcis species novae. (Österr. Bot. Ztschr. 1887. S. 121.) — Kolkwitz, R., und Kolbe, R. W., Zur Kenntnis der Kalktuffbildung durch Grünalgen. (Ber. d. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 41. 1923. S. 312.) — Prát, S., Studie o Biolithogenesi. (Vápenité łasy a Cyanophyceae a jejich význam při tvoření travertinů. V Praze. 1929.) — Wallner, J., Oocardium stratum Naeg., eine wichtige tuffbildende Alge Südbayerns. (Planta, Arch. f. wiss. Bot. Bd. 20. Heft 2. 1933.) — Wallner, J., Über die Beteiligung von Pflanzen an der Kalktuffbildung in Südbayern. Im Druck. 1934.

Nachdruck verboten.

Die biologische Bearbeitung von Pflanzenresten.

[Aus der Abteilung für Allgemeine Mikrobiologie des Staatlichen Instituts für Experimentelle Medizin.]

Von **I. A. Makrinow.**

Mit 4 Abbildungen im Text.

Allgemeines.

Unter dieser allgemeinen Bezeichnung wird eine Reihe von Artikeln, welche die Resultate der biologischen Bearbeitung verschiedener Pflanzenreste wie Torf, Dünger, verschiedene Arten von Stroh, grüne Pflanzenreste usw. wiedergeben, veröffentlicht werden. Diese Bearbeitung wurde durch die Tätigkeit stickstoffixierender Mikroben, Zellulosebakterien, einiger Pilze und anderer Mikroorganismen, ohne jegliche Zugabe von Kohlenhydraten und Stickstoffverbindungen, vorgenommen und bestrebte die Bereicherung der genannten Pflanzenreste an Eiweißverbindungen und Fett. Im Gegensatz zu diesem direkten Wege wurde dieses Ziel bis jetzt gewöhnlich auf indirektem Wege erreicht: indem zu den Pflanzenresten Abfälle von Kohlenhydraten (Melasse, Sulfitlaugen) und Stickstoffverbindungen (Ammoniumsulfat) hinzugefügt wurden.

Abhandlung II[1]).

Die Vermehrung des Azotobakters bei der aeroben Zersetzung von Torf.

Die Frage der Bereicherung des Torfes an Stickstoffquellen ist von großer Bedeutung für jeglichen biologischen Prozeß, der im Torfe vor sich geht; da die überwiegende Mehrzahl der Bodenmikroben, mit Ausnahme einzelner, z. B. der nitrifizierenden Bakterien, Schwefelbakterien u. dgl., ihre Arbeit erst nach Zersetzung der Zellulose durch Zellulosebakterien und Pilze beginnen, wodurch für Bodenbakterien verwertbare organische Stoffe, wie Monosaccharide, organische Säuren u. a. geschaffen werden, so ist es

[1]) Abh. I: Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 89. 1933. S. 201.

selbstverständlich, daß die Gruppe der Zellulosebakterien und verschiedene Pilze wesentliche Faktoren der Torfzersetzung sind. Christensen, Niklewsky, Charpentier u. a. haben gezeigt, daß die Intensität der Tätigkeit der Zellulosebakterien hauptsächlich von der Quantität und Qualität der Stickstoffquellen für diese Bakterien abhängt. Nachdem Pringsheim und Koch auf die Möglichkeit der Lebenstätigkeit des Azotobakters zusammen mit Zellulosebakterien in einer Mineralsalzlösung mit schwedischem Filterpapier, als einziger Kohlenstoffquelle, hingewiesen haben, entstand natürlich das Bestreben, dieselbe Symbiose in Gegenwart verschiedener Pflanzenreste, wie Torf, verschiedener Sorten von Stroh, Blättern usw. zu verwirklichen.

Abb. 1.

In meinen Versuchen habe ich die Zersetzung des Torfes bei genügendem Luftzutritt und reichlicher Benetzung vorgenommen. Nach verhältnismäßig kurzer Bearbeitung des Torfes (8 - 10 Tage) bei niedriger Temperatur (10 bis 12° C) erhielt ich ein an verschiedenen Mikrobengruppen reiches Produkt, in dem diese in höchst aktivem Zustande waren und in dem sich auch Fermente befanden.

Die bakteriologische Analyse des „bearbeiteten" Torfes zeigte, daß die Zellulosebakterien und die stickstoffixierenden Mikroben besonders zahlreich vertreten waren. Unsere Aufmerksamkeit war auf die Vermehrung des Azotobakters und sein Stickstoffbindungsvermögen im Torf gerichtet. Die Resultate dieser Versuche sind unten angeführt.

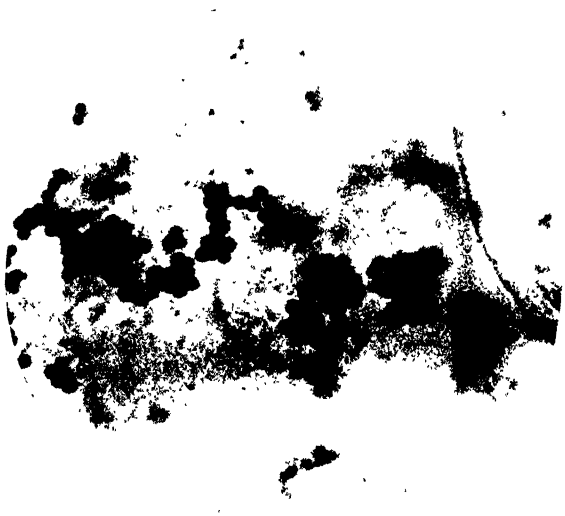


Abb. 2.

Nach der Bearbeitung, dem Abpressen und Trocknen ist der Torf zugleich mit dem Kontrolltorfe einer mikroskopischen und bakteriologischen Untersuchung unterworfen worden. Mikroskopisch zeigte der Kontrolltorf eine überaus arme Mikroflora, welche aus einer geringen Anzahl Stäbchen, Sporen und Pilzmyzel bestand. Eine entsprechende Untersuchung des bearbeiteten Torfes ergab eine mannigfaltige Mikroflora (Abb. 1): in Präparaten nach Winogradsky fallen die charakteristischen Zellen des Azoto-

bakters (Abb. 2) und außerdem kleine Stäbchen, Kokken, und gebogene Formen, schwarze, runde Gebilde — Sporen von Pilzen und Pilzmyzel auf. Der Unterschied zwischen beiden Präparaten besteht hauptsächlich im Vorhandensein des Azotobakters und überhaupt in der Menge der Mikroben im bearbeiteten Torfe im Vergleich zur Kontrolle.

Durch Aussaat kleiner Teilchen des bearbeiteten Torfes auf speziellen Nährböden läßt sich noch deutlicher die enorme Vermehrung der Zellulosebakterien und besonders des Azotobakters nachweisen: auf den Siliciumplatten bildete sich rund um jedes Torfteilchen eine durchsichtige Zone auf dem Filterpapier (Abb. 3) und auf den Silicium-Platten mit Mannit typische, schleimige, sich braun färbende Kolonien des Azotobakters (Abb. 4). Alle diese Ergebnisse der mikroskopischen und bakteriologischen Beobachtungen haben eindeutig auf eine starke Vermehrung des Azotobakters in unserem bearbeiteten Torfe hingewiesen. Dasselbe hat auch die unmittel-

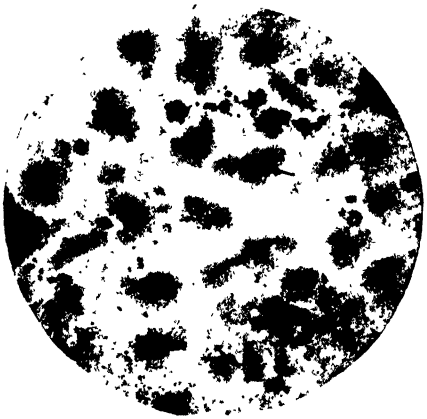


Abb. 3.

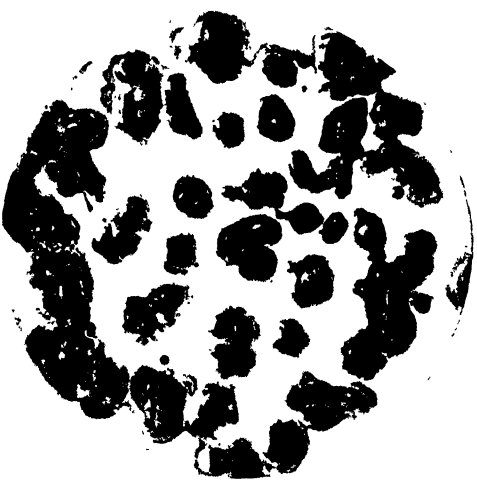


Abb. 4.

bare Zählung der Zellen an mikroskopischen Präparaten nach der Methode von Winogradsky gezeigt. Zur Zählung des Azotobakters wurde bearbeiteter, an der Luft getrockneter Torf genommen. Beachtet man die erhöhte Hygroskopizität des bearbeiteten Torfes im Vergleich zum nichtbearbeiteten, so muß man diesen Umstand bei der Berechnung der Zahl der Azotobakterzellen auf 1 g Torf berücksichtigen. Eine Zählung ist im trockenen und feuchten Torfe vorgenommen worden. Der erste ist nicht nur vom Wasser durch Pressen befreit, sondern noch an der Luft und in der Sonne getrocknet worden; der zweite ist weniger stark abgepreßt, nicht getrocknet und in mit Papier geschlossenen Gefäßen aufbewahrt worden. Aus beiden Torfproben sind Präparate nach Winogradsky angefertigt worden, die Zahl der Azotobakterzellen wurde in verschiedenen, nicht weniger als 25 Gesichtsfeldern des Mikroskopes festgestellt, die Durchschnittszahl genommen, und in 4 Präparaten auf 1 g an der Luft getrockneten Torf berechnet.

Durchschnittlich enthält also 1 g des an der Luft getrockneten Torfes ungefähr 130 Millionen Azotobakterzellen, was einem Gehalt derselben in gutem, fruchtbarem Boden entspricht.

Die Zahl der Azotobacterzellen in 1 g Torf.

	I. Präparat	II. Präparat	III. Präparat	IV. Präparat
Trockener Torf	93 155 000	86 755 000	98 133 000	79 000 000
Feuchter Torf	128 000 000	136 000 000	—	—

Die Bestimmung des Stickstoffes im bearbeiteten und Kontrolltorfe weist auf eine genügend aktive Betätigung des Azotobakters im bearbeiteten Torfe hin, wobei sich ein auffallender Unterschied im trockenen und feuchten bearbeiteten Torfe bemerkbar machte, was aus folgender Aufstellung ersichtlich ist:

Die Menge des assimilierten Stickstoffes in %.

	Gehalt in %	Unterschied in %
Kontrolltorf	0,567	
Bearbeiteter trockener (abgepreßter und ausgetrockneter) Torf . . .	0,610	0,043
Feuchter Kontrolltorf	0,500	
Bearbeiteter feuchter Torf	0,690	0,19

Es ist möglich, daß der große Unterschied im Stickstoffgehalt des trockenen und feucht bearbeiteten Torfes von der Verflüchtigung irgendwelcher, vielleicht ammoniumhaltiger Stickstoffverbindungen, während des langdauernden Trocknens des Torfes im Winde und an der Sonne, herrührt: der feuchte Torf wird dieser Bearbeitung nicht unterworfen und enthält an Stickstoff 190 mg in 100 g Torf mehr als der feuchte Kontrolltorf.

Aus dem oben Erörterten lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. Bei der Zersetzung des Torfes unter reichlichem Luftzutritt und bei genügender Befeuchtung kann man eine üppige Vermehrung des Azotobakters und der Zellulosebakterien erzielen.

2. Diese gemeinsame Vermehrung der beiden genannten Bakteriengruppen läßt auf eine Symbiose im Torf schließen.

3. Beim Trocknen des bearbeiteten Torfes findet eine Verminderung von Stickstoff statt.

Literatur.

Winogradsky, S. N., Études sur la microbiologie du sol. 4-m Mém. sur la dégradation de la cellulose dans le sol. (Annal. Inst. Past. T. 43. 1929.) — Koch, A., Bodenbakteriologische Forschungen und ihre praktische Bedeutung. 1903. — Makrinow, Soil Science. T. 17. 1924. Nr. 1. — Niklewski, B., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 32. 1912. — Christensen, H. R., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 27. 1910 und Bd. 43. 1925. — Pringsheim, Biol. Zentralbl. Bd. 31. S. 65.

Nachdruck verboten.

Kritische Bemerkungen zur „Bodenatmung".

Von **Horst Engel.**

Unter „Bodenatmung" versteht man allgemein die von einer bestimmten Bodenfläche, meistens 1 qm, oder einer bestimmten Bodenmenge, in der Regel 1 kg, in einer bestimmten Zeit ausgeschiedene CO_2-Menge. Man setzt damit den Boden offensichtlich in seiner Gesamtheit einem lebenden Organismus gleich, der Sauerstoff aufnimmt und Kohlensäure abgibt (vgl. Rippel[1]).

Dieser Betrachtungsweise entsprechend herrscht allgemein die Ansicht, daß die Intensität der „Bodenatmung" ein Maßstab für die Atmungsintensität der Bodenmikroorganismen sei. So schreibt Niklas[2]): „J. Stoklasa stellte jeweils fest, wieviel Milligramm Kohlensäure in 24 Std. bei 20% Wassergehalt und 20° C pro 1 kg Boden ausgeatmet werden und betrachtet diese Mengen als Indikator der Atmungsintensität der Bodenmikroorganismen".

Es fragt sich jedoch, inwieweit diese Schlußfolgerung berechtigt ist. Die Höhe der „Bodenatmung" hängt im wesentlichen, wenn man von den geringen CO_2-Mengen anorganischen Ursprungs hier absieht, von zwei Faktoren ab: der Anzahl der Bodenmikroorganismen und ihrer biochemischen Aktivität. Eine bestimmte CO_2-Menge rührt entweder von einer großen Menge Bakterien her mit nur geringer Aktivität, oder aber von einer relativ geringen Anzahl mit intensivem Stoffumsatz. Dazwischen sind alle Übergänge denkbar. Welcher Fall zutrifft, darüber gibt die „Bodenatmung" keine Auskunft. Diese bezieht sich auf den Boden in seiner Gesamtheit, von dem aber nur eine kleine unbekannte Menge das reagierende Substrat darstellt, während der größte Teil biologisch als tote Substanz bezeichnet werden muß.

Die Atmungsintensität der Bodenbewohner kann somit nur dann ermittelt werden, wenn neben den CO_2-Mengen auch noch die Anzahl, das Gewicht oder die Oberfläche der aktiven Organismen bekannt ist. Hierfür sind aber zuverlässige Bestimmungsverfahren nicht vorhanden. So haben z. B. alle Zählmethoden für die Bodenorganismen einer Kritik nicht standhalten können. Man ist demnach gezwungen, mit behelfsmäßigen Bezugsgrößen vorlieb zu nehmen.

Es ist in der Biochemie üblich, die Größe einer biologischen Umsetzung auf die Einheit der dargebotenen Energiequelle zu beziehen. So beurteilt man die Leistung von Azotobakter nach den je 1 g Zucker gebundenen Stickstoffmengen. Bei den durch Mikroorganismen hervorgerufenen Säurebildungen, bei der alkoholischen Gärung usw. wird der Umsatz allgemein auf 100 g der Energiequelle bezogen.

Ich möchte vorschlagen, auch bei der CO_2-Produktion des Bodens so zu verfahren. Als Energiematerial für die meisten Bodenmikroorganismen dient die organische Bodensubstanz, die ich hier der Kürze halber mit dem alten Wort „Humus" bezeichnen will. Man bezieht also die beobachteten CO_2-Mengen auf den Humusgehalt des Bodens, oder, da sich dieser nicht

[1]) Vorlesungen über theoretische Mikrobiologie. Berlin 1927. S. 149.

[2]) „Die biologischen Untersuchungsmethoden" im Handbuch der Pflanzenernährung und Düngerlehre. Bd. I. 1931. S. 832.

genau ermitteln läßt, auf den Gehalt an organisch gebundenem Kohlenstoff. Das Verhältnis CO_2/C ist ein Ausdruck für die Geschwindigkeit der Humuszersetzung. Es gibt an, wieviel Milligramm CO_2 die Bodenorganismen aus 1 g Kohlenstoff in einer gegebenen Zeit entwickeln können. Es ist daher ein ungefährer Maßstab für die biochemische Aktivität der Kleinbewohner des Bodens und läßt damit auch gewisse Rückschlüsse auf ihre Atmungsgröße zu.

Ich möchte hier allerdings ein Bedenken nicht verschweigen. Meine Betrachtungsweise setzt vollkommene Homogenität der organischen Bodensubstanz und dementsprechend überall gleichmäßigen Angriff durch die Mikroorganismen voraus. Der Humus ist aber bekanntlich ein überaus heterogenes Gemenge verschiedenartigster organischer Stoffe. Insbesondere trifft die Voraussetzung nicht zu, wenn neben dem Humus im Boden frische, noch unzersetzte organische Substanzen vorhanden sind. Dann gewinnt die Zersetzung eines verhältnismäßig kleinen Teiles der organischen Bodensubstanz beherrschenden Einfluß auf die CO_2-Produktion, so daß durch die Bezugnahme der beobachteten CO_2-Mengen auf den Gesamtkohlenstoff eine Zersetzungsgeschwindigkeit gefunden wird, die nicht den Tatsachen entspricht. Am günstigsten liegen die Verhältnisse in Böden mit alter, weitgehend humifizierter organischer Substanz, in denen sich eine bestimmte, konstante mikrobiologische Gleichgewichtslage eingestellt hat. Hier kann der Quotient CO_2/C ohne große Bedenken als Maß für die Schnelligkeit der Humuszersetzung benutzt werden.

Ebenso wie man in der Bodenkunde in neuerer Zeit versucht, die Größe der Adsorption nicht mehr auf den Boden, sondern auf den Adsorptionskomplex zu beziehen, um die wahre Größe der Austauschkapazität desselben genauer kennenzulernen, erhält man durch den Quotienten CO_2/C einen klareren Einblick in den Kohlenstoffumsatz und damit auch einen Begriff von der Leistungsfähigkeit der Bodenmikroflora. Ich möchte hierfür folgende treffende Beispiele aus der Literatur anführen:

Waksman[1]) führt eine Arbeit von Sievers und Holtz[2]) an, welche die Beziehungen zwischen dem C/N-Verhältnis der Böden und der Zersetzlichkeit des Humus zeigen soll. Es findet sich in der zitierten Arbeit folgendes Zahlenmaterial für vier Böden:

C-Gehalt %	0,910	1,684	1,860	2,889
C/N-Verhältnis	10,0	11,8	12,0	12,4
Durch „Bodenatmung" flüchtig gewordener Kohlenstoff, mg	120	188	168	231

Waksman schloß aus den C-Verlusten: „The wider the C : N ratio, the more readily will the humus decompose, under normal conditions".

Die Umrechnung der C-Verluste auf den Kohlenstoff läßt dagegen folgendes Bild entstehen:

[1]) Principles of Soil Microbiology. London 1931. S. 603.
[2]) Wash. Agr. Exp. Sta. Bull. T. 166. 1922. T. 176. 1923. T. 206. 1926.

Je 1 g Kohlenstoff flüchtig gewordene Kohlensäure, mg	48,2	40,9	33,0	29,3

Je weiter also das C/N-Verhältnis, desto langsamer zersetzt sich der Humus! Oder auch, je reicher der Boden an Humus, desto langsamer greifen die Mikroorganismen ihn an. Ich möchte diese für die vier Böden zutreffende Feststellung nicht verallgemeinern, aber sie dürfte in vielen Fällen zutreffen. Die langsamere Zersetzung ist allerdings nicht die Folge des zunehmenden Humusgehaltes, wie man vielleicht aus Versuchen von Wollny [1]) schließen könnte, der fand, daß die relative Zersetzlichkeit einer organischen Substanz im Boden um so geringer ist, je mehr man davon dem Boden einverleibt. Vielmehr ist der Gehalt eines Bodens an organischen Stoffen um so höher, je weniger intensiv aus bestimmten Gründen die Mikroorganismen in der Natur arbeiten. Das ist allgemein bekannt, und das wird durch den Laboratoriumsversuch von Sievers und Holtz sichtbar, falls man die beobachteten CO_2-Mengen nicht wie üblich auf den Boden, sondern auf die organische Bodensubstanz bezieht.

Stoklasa [2]) erwähnt einen Lehmboden, der einen Humusgehalt von 2,7% hatte und 498 mg CO_2 je Kilogramm in 10 Tagen „ausatmete". Der Untergrund enthielt 0,5% Humus und gab nur 76 mg CO_2 ab. Die Atmungsintensität der Mikroorganismen in dem letzten wurde demzufolge für „ungemein schwach" gehalten. In der Krume wurden je 1 g Humus 18,4 mg CO_2 in Freiheit gesetzt, im Untergrund 15,2 mg, so daß also in Wirklichkeit kein größerer Unterschied in der Mikroorganismen-Aktivität bestand.

Ein anderer Lehmboden mit 2,3% Humus entwickelte in 10 Tagen 140 mg CO_2 je Kilogramm, ein saurer Torfboden mit 15% Humus dagegen 412 mg. Trotz der dreimal höheren CO_2-Menge waren die Bodenbewohner in diesem nur etwa halb so aktiv; denn im Mineralboden wurden 6,1 mg CO_2 je 1 g Humus in Freiheit gesetzt, im Torfboden aber nur 2,7 mg. Der geringe C-Umsatz der Torfböden ist ja bekannt, und der hohe Gehalt dieser Böden an organischen Stoffen ist die Folge der geringen mikrobiologischen Aktivität.

Zum Schluß sei noch ein Beispiel aus einer Arbeit von Lemmermann und seinen Mitarbeitern [3]) erwähnt. Der C-Gehalt eines leichten, humusarmen Sandbodens senkte sich in 8 Wochen von 0,446 auf 0,410%, der eines schweren Lehmbodens von 2,140 auf 2,085%. Die CO_2-Produktion wurde nicht bestimmt, so daß nicht ganz sicher ist, ob die Verluste allein durch „Bodenatmung" entstanden. Macht man jedoch diese Annahme, kommt man zu folgenden Zahlen: Der Sandboden „atmete" 1320 mg CO_2 je Kilogramm aus, der Lehmboden 2017 mg. Je 1 g Kohlenstoff wurden dagegen 296 bzw. nur 94 mg CO_2 in Freiheit gesetzt. Es fragt sich nun, in welchem der beiden Böden die Mikroorganismen aktiver waren. Je nach der Wahl der Bezugsgröße fällt die Antwort naturgemäß ganz verschieden aus!

Es dürfte aber sicher sein, daß der Sandboden die aktivere Mikroflora beherbergte. Die Ursache des intensiven C-Umsatzes vieler Sandböden (Humuszehrer) ist ja bekannt: es ist die gute Durchlüftung. Da der Humus in diesen Böden unter normalen Umständen schnell verschwindet, sind sie

[1]) Die Zersetzung der organischen Stoffe und die Humusbildungen. Heidelberg 1897.

[2]) Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 14. 1905. S. 723.

[3]) Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. 41. 1911. 217.

oft extrem humusarm wie im vorstehenden Fall. Dementsprechend ist auch ihr Bakteriengehalt meistens nicht hoch, wenngleich ihre mikrobiologische Aktivität durchaus nicht als gering bezeichnet werden darf, wie das eben erörterte Beispiel lehrt. Überhaupt dürfte die Zahl der Bodenbewohner primär von der Menge des vorhandenen organischen Materials abhängen, ihre biochemische Aktivität in erster Linie von den chemischen und physikalischen Bodenfaktoren wie Säuregrad, Mineralstoffgehalt, Luftmenge usw. Lemmermann fiel damals die relativ stärkere Zersetzung der organischen Bodensubstanz des C-ärmeren Sandbodens auf. Er wertete seine Beobachtung jedoch nicht nach der biologischen Seite aus.

Ich habe Gelegenheit gehabt, an Hand eigener Versuche die Richtigkeit meiner Ansicht zu prüfen. Ohne daß ich hier auf diese Untersuchungen eingehe, möchte ich darauf hinweisen, daß schon nach den obenerwähnten Literaturbeispielen die auf den Humus bezogenen CO_2-Mengen den Einfluß der Bodenfaktoren auf die biochemische Aktivität der Mikroorganismen wesentlich schärfer erkennen lassen als die auf den Boden bezogenen. In Gestalt des Begriffes der relativen Zersetzlichkeit von dem Boden zugefügter organischer Stoffe ist diese Betrachtungsweise schon seit Wollnys Zeiten bekannt, aber merkwürdigerweise wurde sie nicht nach der biologischen Seite ausgewertet. Die Klassifizierung der Böden nach der Höhe ihrer „Bodenatmung", wie sie von Stoklasa[1]), Hesseling van Suchtelen[2]) u. a. mit großen Hoffnungen begonnen wurde, scheiterte z. T. daran, daß der Einfluß der Umweltfaktoren auf die CO_2-Produktion der Bodenmikroorganismen eben nicht in der „Bodenatmung" genügend zum Ausdruck kommen kann.

Zusammenfassung.

1. Es wird gezeigt, daß mit der verbreiteten Ansicht zu brechen ist, nach welcher die Höhe der „Bodenatmung" ein Indikator der Atmungsintensität der Bodenbewohner sei.

2. Es wird vorgeschlagen, künftig die CO_2-Produktion der Böden auf den organisch gebundenen Kohlenstoff zu beziehen, wodurch ein Maßstab für die Zersetzungsgeschwindigkeit des Humus erhalten wird.

3. An Hand einer Reihe von Beispielen aus der Literatur wird gezeigt, daß durch diese Betrachtungsweise der Einfluß der physikalischen und chemischen Beschaffenheit des Bodens auf die Tätigkeit der Kleinlebewesen schärfer zum Ausdruck kommen dürfte als durch die übliche Bezugnahme der CO_2-Produktion auf den Boden.

[1]) Siehe Anmerkung 2, S. 158, ferner Biophysikalische und biochemische Durchforschung des Bodens. Berlin 1926.

[2]) Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. 1910. S. 45.

Nachdruck verboten.

Corynebacterium ferreosiliceum n. sp.

[Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Aachen.]

Von **A. Brussoff.**

Mit 5 Abbildungen im Text.

Aus dem vom Verf. an anderer Stelle[1]) beschriebenen körnig-erdigen, sinterartigen Kanalbelag der Rosenbadquelle in Aachen-Burtscheid wurde ein Organismus isoliert, der seinem morphologischen und physiologischen Charakter nach zu der Gattung Corynebacterium Lehm. et Neum. gerechnet werden muß, und der die Fähigkeit besitzt, Kieselsäure in seinem Innern zu speichern und Eisen in Form von Eisenkarbonat auszuscheiden.

Bei der mikroskopischen Untersuchung des erdigen Belages wurden zahlreiche gabelförmig verzweigte Stäbchen gefunden, die von dichten Ansammlungen einer Eisenverbindung umlagert waren. Um diesen Organismus zu isolieren, wurden einige Reagenzgläser mit Eisenammonzitrat-Lösung (0,05% Eisenammonzitrat im Rosenbad- bzw. Kaiserquellwasser gelöst) mit dem Belag geimpft und bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen gelassen. Zur Kontrolle wurden auch einige ungeimpfte Reagenzgläser mit derselben Lösung unter denselben Bedingungen aufgestellt. Nach 7—8 Wochen bildete sich in allen geimpften Reagenzgläsern am Boden ein dicker, dunkel rostfarbiger Niederschlag, die Flüssigkeit darüber war vollkommen wasserklar. An der Oberfläche war ein dünnes, metallisch glänzendes Häutchen vorhanden, und die Glaswand war dicht mit rostfarbigen Flocken bedeckt. Diese erschienen unter dem Mikroskop goldgelb und bestanden aus Massen von Stäbchen von ca. 8—15 μ Länge und ca. 1 μ Dicke, von denen viele an einem Ende gabelförmig verzweigt waren. Vereinzelt wurden Organismen mit noch einer zweiten Gabelung an einem der Zweige gefunden. Gelbes Butlaugensalz in Salzsäure rief unter lebhafter Blasenbildung intensiv blaue Färbung der Flocken hervor. Genauere Untersuchung zeigte, daß die Stäbchen und Gabeln selbst ungefärbt blieben.

Ein kleines Stückchen vom flockigen Wandbelag wurde auf dem Objektträger über der Flamme fixiert, mit konz. HCl behandelt, ausgewaschen und mit Karbolfuchsin gefärbt. Von Eisenausscheidungen war jetzt nichts mehr zu sehen, es waren nur gabelig verzweigte Gebilde und Stäbchen vorhanden, die an sich nur schwach gefärbt erschienen, dagegen im Inneren einzelne oder mehrere intensiv gefärbte, ovale Körnchen enthielten (Abb. 1).

Aus der Literatur über Corynebakterien[2]), insbesondere über C. diphtheriae, ist bekannt, daß man bei diesen Organismen oft sog. „metachromatische Körperchen" findet, die mit Volutin identisch sein sollen[3]). Daß es sich in unserem Falle nicht um Volutin handeln kann, zeigt der eben angeführte Versuch mit HCl, wobei die Körnchen ungelöst blieben, während das Volutin in Salzsäure löslich ist. Auch einige andere von Arth. Meyer[4])

[1]) A. Brussoff, F. Reinartz und A. Schloemer, Über die Bakterientätigkeit in den Thermen von Aachen und Aachen-Burtscheid. (Ztschr. f. Untersuch. d. Lebensmittel. Bd. 66. 1933. S. 446.)

[2]) Vgl. Lehmann und Neumann, Bakteriologie, insbes. Bakteriolog. Diagnostik. 7. Aufl. Bd. 2. S. 674 ff.

[3]) Ebenda, S. 678.

[4]) Arth. Meyer, Die Zelle der Bakterien. Jena 1912. S. 243 ff.

angegebene charakteristische Volutinreaktionen fielen negativ aus. Bei der Behandlung der Präparate mit verschiedenen Säuren blieben sowohl die Zellen selbst, wie auch die Körnchen, immer ungelöst. Sogar nach der Behandlung mit einer Lösung von $K_2Cr_2O_7$ in konz. H_2SO_4 erschienen auf dem Präparat ebenso zahlreiche Stäbchen und Körnchen wie vor der Behandlung. Es lag der Gedanke nahe, daß es sich bei den Körnchen und Stäbchen um Kieselsäure handeln mußte. Daß es tatsächlich der Fall war, zeigte die Einwirkung von HFl, die die Stäbchen und Körnchen sofort auflöste[1]). Die Behandlung der Präparate nach der Küsterschen Methode mit Phenol rief mehr oder weniger intensives rotes Aufleuchten der Körnchen und rosafarbiges Aufleuchten der Stäbchen hervor. Nach der Behandlung mit HFl + NaCl (auf mit Kanadabalsam gefirnißten Objektträgern) bildeten sich typische Kristalle von Natriumfluorsilikat. Eine kleine Menge vom flockigen Wandbelag wurde auf dem Platinblech ausgeglüht, der graue Rückstand in ein Tröpfchen Wasser auf dem Objektträger abgekratzt, und das Tröpfchen durch Erwärmen zum Verdunsten gebracht. Neben den großen schwarzen Klumpen irgendeiner Substanz sah man einzeln oder in Ansammlungen liegende Bruchstücke von Stäbchen und zahlreiche Körnchen. Das Präparat wurde nacheinander mit HCl, H_2SO_4 und $H_2SO_4 + K_2Cr_2O_7$ behandelt: Bruchstücke und Körnchen lösten sich nicht auf. Nach der Behandlung mit HFl trat vollkommenes Auflösen ein.

Abb. 1. Gerade und gabelförmige Stäbchen mit Kieselkörnchen. Karbolfuchsinfärbung. Vergrößerung etwa 800 fach.

Die Reinkultur des Organismus wurde auf Eisenammonzitrat-Agarplatten gewonnen, wobei zur Herstellung des Agars dieselbe Nährlösung gebraucht wurde wie oben angeführt.

Eisenammonzitratagar-Platten. Am 3.—4. Tage nach der Impfung findet man Tiefen- und Oberflächenkolonien. Erstere erscheinen rostfarbig, rund, ohne scharf ausgeprägten Rand. Letztere sind weißlich, erhaben, saftig glänzend, mehr oder weniger kreisrund, mit scharf begrenztem Rand. Mikroskopisch sind beide von ausgesprochen körniger Struktur; in der Mitte sieht man einen kompakten Kern, von dem aus sich nach allen Seiten ein rostfarbiger oder gelber Hof ausbreitet, der bei den Tiefenkolonien allmählich in die Agarschicht übergeht, während er bei den Oberflächen-

[1]) Infolge der zerstörenden Wirkung der Schwefel- und Chromsäure auf Kanadabalsamfirnis und auf Celluloid war ich gezwungen, die Versuche auf gewöhnlichen Glasobjektträgern auszuführen. Das Objektiv wurde dabei durch ein mit Cedernöl befestigtes Deckgläschen geschützt. Das auf dem Objektträger fixierte und mit verschiedenen Säuren behandelte Präparat wurde mit einem Wassertröpfchen bedeckt und mit oder ohne Deckgläschen beobachtet. Zu dem Wassertröpfchen wurde vorsichtig nach und nach HFl zugesetzt. Bei einer gewissen Konzentration lösten sich die Stäbchen und Körnchen vollkommen auf, und zwar noch bevor das Glas durch HFl so stark angegriffen worden war, daß das Bild undeutlich wurde.

kolonien scharf begrenzt ist. Untersucht man ein winziges Stückchen von der Oberflächenkolonie in einem Tröpfchen Wasser ohne Deckgläschen, so findet man zahlreiche Bakterienbüschel, wo die Stäbchen aus einem Punkt oder aus einer kurzen Linie ausgehend sich nach allen Richtungen strahlenförmig ausbreiten. Wenn man jetzt das Präparat durch vorsichtiges Verdunsten des Wassers fixiert, so verliert zwar das Bild seine Plastizität, die Stäbchen behalten aber ihre strahlenförmige Lagerung (Abb. 2). Viele Stäbchen sind nach einem Ende hin keulenförmig verdickt, nach dem anderen zugespitzt. Ab und zu trifft man auch gabelförmig verzweigte Stäbchen. Überall sind im Innern der Stäbchen Körnchen vorhanden. Verschiedene Präparate wurden nacheinander mit HCl, H_2SO_4 und $H_2SO_3 + K_2Cr_2O_7$ behandelt: Stäbchen und Körnchen lösten sich dabei nicht auf, was beson-

Abb. 2.

Abb. 3.

Abb. 2. Strahlenförmige Lagerung keulenförmig verdickter Stäbchen. Photographiert von einem ungefärbten, trockenen Präparat. Vergrößerung etwa 800 fach.

Abb. 3. Kokkenartige Granula. In der Mitte sieht man ein nur teilweise zerfallenes Stäbchen. Malachitgrünfärbung. Vergrößerung etwa 800 fach.

ders deutlich nach der Färbung solcher Präparate mit 2 proz. Malachitgrünlösung zu sehen war. Phenol rief deutliches rotes oder rosafarbiges Aufleuchten der Stäbchen und Körnchen hervor. Die Behandlung der Präparate mit gelbem Blutlaugensalz und Salzsäure blieb zunächst ohne Wirkung. Nur in einer Kultur, wo die überwiegende Mehrzahl der Stäbchen zwar auch ungefärbt blieb, wurden fast in jedem Gesichtsfeld 1—2, manchmal auch mehr, Stäbchen gefunden, die an einem Ende eine intensiv blau gefärbte „Eisenkappe" trugen.

In einer über 3 Monate alten Kultur wurden in den Ausstrichpräparaten von Oberflächenkolonien neben den üblichen Stäbchen und Gabeln auch solche gefunden, die entweder zum Teil oder auch ganz in kokkenartige Granula zerfallen waren. Oft waren die Granula zu streptokokkenartigen Ketten verbunden (Abb. 3).

In 3—5 Wochen alten Kulturen fand man in den Kolonien und auch

frei im Agar liegend, unregelmäßig oktaeder- oder semmelförmige „Kristalle", deren nähere Beschreibung weiter unten folgt.

Eisenammonzitratschrägagar-Kultur. Am 3.—4. Tage erscheint längs des Striches ein fast durchsichtiger, saftig glänzender Belag, der stellenweise weißlich wird. Später verliert der Belag seinen Glanz und wird fast unsichtbar. Mikroskopisch wie oben.

Fleischextraktbouillon-Kulturen. Am 3.—4. Tage wird die Bouillon etwas trübe, an der Oberfläche entsteht ein dünnes, kaum sichtbares, durchsichtiges Häutchen. Mikroskopisch vorwiegend kurze Stäbchen, selten gabelig verzweigte Individuen, die dann an die Bakteroiden der Knöllchenbakterien erinnern. Fast in jedem Stäbchen 1—2 Körnchen; diese lassen sich mit Karbolfuchsin und anderen Farbstoffen gut färben.

Fleischextraktagar-Platten. Am 4.—6. Tage bilden sich Tiefen- und Oberflächenkolonien. Erstere sind punktförmig, unregelmäßig konturiert. Letztere sind weiß, rund, glänzend, locker aufliegend, erhaben; größere Oberflächenkolonien sind von einem flacheren, bläulich opaleszierenden, unregelmäßig konturierten, tief eingebuchteten Hof umgeben. Die Oberflächenkolonien erscheinen schwach vergrößert in der Mitte gelblich, mit zahlreichen radiären Falten, die dann allmählich in den tief eingebuchteten Hof übergehen. Wie in der Bouillonkultur bestehen sie vorwiegend aus kurzen Stäbchen mit Körnchen im Innern. „Kristall"-Bildung wurde nicht beobachtet.

Fleischextraktgelatine-Platten. Am 4. Tage erscheinen mikroskopisch kleine, unregelmäßig runde, braune, scharf umrissene Kolonien von ausgesprochen körniger Struktur, die später auch makroskopisch sichtbar werden.

Fleischextraktgelatine-Stichkultur. Am 4. Tage ist am Eingang des Stichkanals an der Oberfläche der Gelatine ein stecknadelkopfgroßer, weißer, saftig glänzender Belag vorhanden; längs des Stiches zieht sich ein weißlicher Streifen hin, der, je tiefer im Kanal, desto undeutlicher wird. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Agarkultur Kaiserquellwasser + 0,05% $FeCl_3$: Am 4. bis 6. Tage erscheinen mikroskopisch kleine, unregelmäßig runde und ovale Tiefenkolonien von gelblicher Färbung und ausgesprochen körniger Struktur. Nach einigen Wochen wachsen sie bis zur Oberfläche durch und sind hier weiß, saftig glänzend, rund, erhaben. Mikroskopisch sieht man in der Mitte von jeder Kolonie einen braunen Kern von unregelmäßiger Form; die den Kern umgebende Randpartie ist fast weiß, von ausgesprochen körniger Struktur. Auf dem Ausstrichpräparat findet man kürzere und längere Stäbchen, die im Inneren Reihen von Körnchen enthalten, die von HFl aufgelöst werden.

Färbbarkeit. Die Zellen sind meistens gut mit Methylenblau, Fuchsin, Karbolfuchsin und Malachitgrün färbbar, Gram-positiv und nicht säurefest.

„Kristalle." Wie erwähnt, bilden sich in den Eisenammonzitratkulturen in und außerhalb der Kolonien unregelmäßige oktaeder- und semmelförmige „Kristalle". Die letzteren liegen entweder in dichten Massen in den Kolonien (Abb. 4) oder isoliert mitten in der Agarschicht. Sie sind goldgelb bis rostbraun. Ihre Oberfläche ist mit zahlreichen, sich in einer Richtung erstreckenden spitzen, dreieckigen Höckerchen bedeckt.

Bei der Behandlung eines „Kristalls" mit gelbem Blutlaugensalz und Salzsäure entsteht lebhaftes Aufbrausen und der Rückstand färbt sich deutlich blau, was auf das Vorhandensein von Eisenkarbonat hinweist. Man sieht jetzt eine stark gefaltete Membran von der ursprünglichen Form des „Kristalls" und im Innern eine dichte Masse von ausgesprochen körniger Struktur. Bei starker Vergrößerung, besonders wenn man den Rückstand durch Aufdrücken des Deckgläschens etwas zertrümmert, sieht man neben Massen von winzigen Körnchen auch Stäbchen und hier und da auch gabelförmige Gebilde, wobei alles blau gefärbt erscheint.

Je älter die „Kristalle" sind, desto schwerer werden sie von den Säuren angegriffen. So wurden einige oktaederförmige „Kristalle" von einer über 7 Monate alten Kultur mit konz. H_2SO_4 behandelt. Es entstand nur schwache Blasenbildung, die bald aufhörte; die „Kristalle" behielten ihre Form und großtenteils auch ihre ursprüngliche rostgelbe Färbung. Zu denselben Resultaten führte auch die Behandlung mit konz. $H_2SO_4 + K_2Cr_2O_7$. Nun wurde das Präparat mit HFl behandelt. Trotz der Einwirkung dieser Säure auf das Glas konnte man auch ihre Einwirkung auf die „Kristalle" sehr schön beobachten. Es trat lebhaftes Aufbrausen auf, die „Kristalle" verloren ihre Färbung vollkommen, und es hinterblieben farblose Häutchen von der ursprünglichen Form der „Kristalle". Nach dem Auswaschen der HFl wurde das Präparat mit konz. H_2SO_4 behandelt: Die Häutchen nahmen zuerst mehr oder weniger kugelige Form an und lösten sich darauf vollkommen auf.

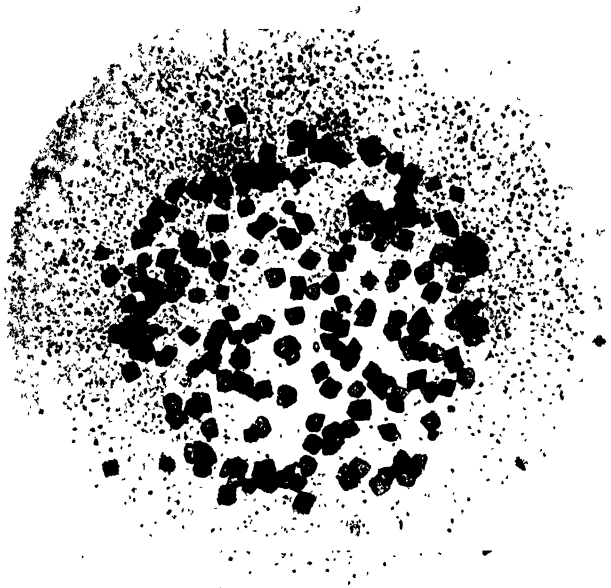


Abb. 4. Oktaederformige „Kristalle" in einer Kolonie. Vergrößerung etwa 80 fach.

Dieses verschiedene Verhalten der „Kristalle" H_2SO_4 gegenüber läßt sich damit erklären, daß sie mit dem zunehmenden Alter mehr und mehr von der Kieselsäure durchsetzt werden, so daß bei älteren Kristallen der Zugang zum Eisenkarbonat erst nach dem Auflösen der Kieselsäure durch HFl freigemacht wird; es hinterbleibt dann nur die organische Hülle, die leicht von konz. H_2SO_4 aufgelöst wird. Die „Kristalle" enthalten die Kieselsäure in Form von winzigen Granula.

Die semmelförmigen „Kristalle" wurden vorwiegend in Eisenammonzitratschrägagar-Kulturen gefunden. Sie liegen in einem rostfarbigen Bakterienhäutchen, das aus Massen von Stäbchen und Gabeln besteht, die in ihrem Inneren Kieselkörnchen enthalten. Diese „Kristalle" nehmen ihre Form erst allmählich an. Das erste Stadium, das beobachtet werden konnte, stellt ein hellgelbes, ovales Gebilde dar von deutlich körniger Struktur. Zerdrückt man ein solches Gebilde etwas, so sieht man, besonders deutlich im Dunkelfeld, daß es aus Massen von dicht neben- und übereinanderliegen-

den Stäbchen besteht. Das nächste Stadium ist der Form nach ein ebensolches, aber schon dunkel rostfarbiges Gebilde, bei dem man die körnige Struktur nur im Dunkelfeld deutlich sehen kann, wobei es auch von einer helleuchtenden Hülle umgeben erscheint. Im Hellfeld erscheint das Innere fast homogen, umgeben von einem dunklen Rand. Die Hülle bekommt dann an einem oder an beiden Polen des Gebildes spitze Auswüchse, die sich später in deutliche Falten umwandeln. Gleichzeitig mit der Faltenbildung beginnt auch das Aufleuchten der Gebilde zwischen gekreuzten Nicols. Die Faltenbildung schreitet nach und nach um den ganzen „Kristall" herum fort, wobei er allmählich die Semmelform bekommt und an Größe um das Mehrfache des ursprünglichen Gebildes zunimmt. Während die ersten Stadien etwa zwischen 9 und 15 μ lang und 3—7,5 μ dick sind, erreichen die ausgebildeten „Kristalle" an Länge bis 45 μ und an Breite bis 25 μ.

Die ausgebildeten semmelförmigen „Kristalle" sind an der Oberfläche mit zahlreichen Höckerchen versehen, so daß ihre Konturen im optischen Schnitt sehr zackig erscheinen (Abb. 5). Bei allen „Kristallen" kann man deutlich zwei Partien unterscheiden: die goldgelbe innere, die bei allen Kristallen mehr oder weniger zylindrisch und an der Peripherie zerfranst ist, und die sie umgebende fast farblose höckerige Partie, die den „Kristallen" ihre eigenartige Form gibt. Manchmal legen sich zwei „Kristalle" kreuzweise übereinander und bilden dann eine Kugel, die deutlich in 4 Segmente eingeteilt ist. Zwischen gekreuzten Nicols leuchten die „Kristalle" bunt auf.

Abb. 5. Ausgebildete semmelförmige „Kristalle". Vergrößerung etwa 800 fach.

Wenn man einen ausgebildeten „Kristall" auf dem Objektträger durch Aufdrücken des Deckglases zerdrückt und etwas zerreibt, so hinterbleibt eine mehr oder weniger runde Scheibe, die dicht von Körnchen umlagert ist. Betrachtet man eine solche Scheibe im Dunkelfeld, so sieht man in ihr Massen von leuchtenden Stäbchen und Körnchen. Die Behandlung der Körnchen mit verschiedenen Säuren zeigte, daß sie aus Kieselsäure bestehen.

Auf Grund der oben beschriebenen Eigenschaften schlage ich vor, dem Organismus den Namen Corynebacterium ferreosiliceum n. sp. zu geben.

Zusammenfassung.

Der aus dem sinterartigen Schlamm der Rosenbadquelle in Aachen-Burtscheid isolierte Organismus entspricht fast ausnahmslos der von Lehmann und Neumann charakterisierten Gattung Corynebacterium. In Kulturen trägt er durchaus den Charakter echter Bakterien. Die Kolonien sind weich, dem Nährboden locker aufliegend. Die Zellen sind gut mit gewöhnlichen Anilinfarben färbbar, grampositiv, unbeweglich, nicht säurefest. Es sind gerade oder sehr oft gabelförmig verzweigte Stäbchen, selten wurde Neigung zu weiteren Verzweigungen beobachtet. Die Stäbchen sind häufig keulenförmig angeschwollen oder spitz ausgezogen und bilden oft zu mehreren sehr typische strahlige Ansammlungen. Die von

Lehmann und Neumann als Charakteristikum angegebene „streifige Färbung, indem gut und schlecht färbbare Strecken abwechseln", konnte bei dem untersuchten Organismus nicht festgestellt werden.

Fast in jeder Kultur wurden beinahe in allen Zellen charakteristische Körnchen gefunden, die aber nicht, wie sonst bei Corynebakterien, aus Volutin, sondern aus Kieselsäure bestehen.

Sowohl in seinem Fundort, wie auch in den flüssigen Eisenammonzitrat-Kulturen besitzt der untersuchte Organismus die Fähigkeit, aus dem Substrat Eisen in Form von Eisenkarbonat auszuscheiden.

In Eisenammonzitratagar-Kulturen bildet dieser Organismus Eisenkarbonat und Kieselsäure speichernde Ansammlungen, die von einer organischen Hülle umgeben sind und die Form von oktaeder- oder semmelförmigen „Kristallen" annehmen.

Es wurde vorgeschlagen, diesem Organismus den Namen Corynebacterium ferreosiliceum n. sp. zu geben.

Auch an dieser Stelle danke ich der Gesellschaft von Freunden der Aachener Hochschule für die mir bei meiner Arbeit geleistete materielle Unterstützung.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Malianz, A. A., Mikrobiologische Untersuchung des Kaspischen Meerbodens. Baku-Moskau 1933. 88 S. [Russ.]

Die Monographie wird durch eine Anzahl geographischer und hydrochemischer Angaben über das Kaspische Meer eingeleitet und enthält ferner Tabellen, die seinen Bodenbestand an verschiedenen Stellen charakterisieren. Im Kapitel über den Schwefelkreislauf weist Verf. darauf hin, daß im Meer biochemische H_2S-Bildung vorwiegend ist, sowohl infolge der Zersetzung organischer Substanzen, wie auch infolge der Reduktion von Sulfaten. Eiweißzersetzung mit H_2S-Bildung ließ sich fast in allen Bodenproben beobachten. Erreger waren meist sporenbildende Stäbchen. Bei Impfung von van Deldenschen Nährböden in Fläschchen mit Glasstöpseln mit Bodenklümpchen ließ sich am 3.—5. Tage Bildung von Schwefeleisen beobachten. Die aus dem Boden isolierte Microspira aestuaria entwickelt sich gut auf Nährböden mit 5—6% NaCl und besitzt die Fähigkeit, H_2S in großer Menge zu bilden. Ferner werden die Microspira begleitenden Stäbchen und Spirillen beschrieben. Auf die Wand der Fläschchen, in denen die H_2S-Gärung verlief, setzte sich ein durchsichtiges, irisierendes Häutchen, das aus Silicium bestand. Von Schwefelverbindungen oxydierenden Mikroorganismen wurden Thiobac. thioparus und Th. denitrificans isoliert. In Fläschchen bildeten die Schwefelbakterien ein Häutchen, das sich senkte, wenn der H_2S völlig oxydiert war. Die Thiobakterien bewirken die Verwandlung bedeutender Mengen reduzierter in für die Organismen assimilierbare Schwefelverbindungen. Im Meer, insbesondere in der Uferzone, wurden Purpurbakterien, vornehmlich aus der Gruppe Chromatium, gefunden. Die in den Bodenproben gefundenen Eisenbakterien gehörten zu den Gattungen Leptothrix, Lieskeella und Ochrobium. Die letzteren entwickeln sich gut bei gemeinschaftlicher Kultivierung mit Azotobacter, da erhöhter CO_2-Gehalt und erschwerter Zutritt von Sauerstoff die

Entwicklung der Ochrobium fördern. Der aus den Bodenproben isolierte Azotobacter vermehrte sich nicht auf Nährböden, die über 0,5% NaCl enthielten, bildete auf der Oberfläche der Flüssigkeit ein weißes, allmählich schwarz werdendes Häutchen und entwickelte sich gut in Joddämpfen. Die vom Azotobacter in Reinkulturen assimilierte Stickstoffmenge betrug 5,8 mg auf 1 g Mannit. Die Verbreitung des Azotobacters im Meerboden wurde durch Impfung des Nährbodens von Niklas mit verschiedenen Mengen der Bodenproben festgestellt. Bei Besäung mit 0,01 g gediehen die Bakterien in zwei Drittel der Proben, bei Besäung mit 0,1 in allen Proben. Fast in allen Proben war Azotobacter von Bac. radiobacter begleitet. Stickstoffixierung unter anaeroben Bedingungen wird von Clostridium Pasteurianum bewirkt, das bis zur Tiefe von 946 m gefunden wurde; es entwickelte sich gut in Symbiose mit Azotobacter und fixierte bis 6 mg Stickstoff auf 1 g Dextrose.

Nitrifikation ist im Kaspischen Meer stark verbreitet und in der Uferzone stärker ausgesprochen, wo beide Phasen vorhanden sind, während vom Ufer entfernt sich keine Salpetersäure bildet. Im Boden wurde Nitrosomonas gefunden, während Nitrobacter bedeutend seltener vorkam. Aus dem Meeresboden isolierte denitrifizierende Bakterien reduzierten energisch Nitrate — im Verlauf von 2 Tagen verschwanden alle Nitrate und Nitrite aus dem Nährboden. Das Temperaturoptimum für den Prozeß betrug 25—27°, schwache Reduzierung ließ sich indes selbst bei 7—8° und darunter beobachten. Der Luftsauerstoff übt keinen Finfluß auf die Reduktion der Nitrate aus. Auf künstlichen Nährböden verlieren die Bakterien mit der Zeit die Fähigkeit, Nitrate zu reduzieren, während hingegen in Bodenproben diese Fähigkeit bis 7 Jahre erhalten bleibt. Verf. beschreibt 7 von ihm isolierte denitrifizierende Bakterien.

Zellulosezersetzung unter anaeroben Bedingungen wird von Bac. ferrugineus und Sp. cytophaga hervorgerufen und dauert 5—40 Tage. Schwächer verläuft die von Bac. cellulosae methanicus und B. cell. hydrogenicus hervorgerufene und von Zuckerbildung begleitete Gärung. Nach Ansicht des Verf.s ist im Boden des Kaspischen Meeres H_2S-Gärung vorherrschend, reguliert wird das Verhältnis der Stickstoffverbindungen durch die am stärksten verbreitete Gruppe der denitrifizierenden Bakterien. A. Imšenecki (Leningrad).

Jaczewski, A., Grundrisse der Mykologie. 1933. 1036 S. [Russisch.]

Das gediegene Werk des bekannten, schon verstorbenen Mykologen liefert erschöpfende Kenntnisse der Morphologie und Physiologie der Pilze. Es enthält folgende Abschnitte: I.—II. Historische Angaben. III. Morphologie der vegetativen Organe der Pilze. IV. Die Pilzzelle und ihr Inhalt. V. Chemie der Pilze. VI. Enzyme der Pilze. VII. Eßbare und giftige Pilze. VIII. Oekologie und Physiologie der Pilze. IX. Substrate und Nährböden. X. Die Reproduktionsorgane der Pilze und der Wechsel der Generationen. XI. Mykogeographie und Pilzgemeinschaften. XII. Anomalien der Pilze (Teratologie).

Das reichhaltige Material macht das Werk zu einem wertvollen Handbuch für Biologen. Das Buch enthält 251 Abbildungen. Das Literaturverzeichnis umfaßt 162 S. A. Imšenecki (Leningrad).

Sorauers Handbuch der Pflanzenkrankheiten. In 6 Bänden herausgeg. von **O. Appel.** 1. Bd. Die nichtparasitären und Virus-Krankheiten. 1. Teil, 6. Aufl. Berlin (Paul Parey) 1933. 592 S., m. 123 Textabb. Geb. 46 RM.

Mit einer gewissen Spannung wurde der I. Band des Sorauerschen Handbuches erwartet, dessen Neubearbeitung unumgänglich notwendig geworden war. Hat sich doch im letzten Jahrzehnt die Anschauung über Phytopathologie grundlegend umgestellt und sich wieder der vom Begründer vertretenen Ansicht zugewandt, daß der Gesundheitszustand der Kulturpflanzen eine der wichtigsten Vorbedingungen für das Auftreten von Krankheiten und Schädigungen darstellt. Und wenn ich daraufhin den bisher erschienenen ersten Teil des ersten Bandes „Die nichtparasitären und Viruskrankheiten" durchblättere, so komme ich zu dem Ergebnis: der alte Sorauer in moderner Fassung. Um den umfangreichen Stoff zu bewältigen, wurden eine Reihe von Mitarbeitern herangezogen; es bearbeiteten **K. Braun**: Überblick über die Geschichte der Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschädlinge (bis 1880); **H. Morstatt**: Allgemeine Pflanzenpathologie; **F. Merkenschlager**: Pflanzenernährung und Pflanzenkrankheiten; **E. Hiltner**: Klima und Witterung als Ursachen nichtparasitärer Krankheiten; **H. Wartenberg**: Kälte und Hitze als Todesursachen der Pflanzen und als Ursache von Pflanzenkrankheiten. Wenn der historische Überblick mit dem Jahre 1880 abschließt, so wohl deshalb, weil diesem Zeitpunkt eine besondere Bedeutung zukommt. Morstatt datiert von diesem Jahre an die „breitere Entwicklung der Erforschung von Pflanzenkrankheiten", also die moderne Pflanzenpathologie. Die Darstellung der Entwicklung der neuen Wissenschaft seit diesem Zeitpunkt bis zur Gegenwart auf nicht ganz 7 Seiten ist etwas stiefmütterlich weggekommen im Vergleich zu dem historischen Überblick bis 1880, dem fast 5 Bogen eingeräumt wurden und dessen Lektüre doch auf die Dauer ermüdet. Morstatt stützt sich auf seine Einführung in die Phytopathologie; dem Kapitel über das Wesen der Krankheit folgt die Behandlung der Bedingtheit der Erkrankung. Hier werden die Zusammenhänge zwischen Pflanzen und den Umweltfaktoren eingehend und meisterlich dargelegt; sie bilden gegenwärtig die Grundlage der gesamten Phytopathologie. Hier wird das Handbuch zum Lehrbuch, aber niemand, der sich ernsthaft mit phytopathologischen Problemen befaßt, wird das dem Verf. übelnehmen, im Gegenteil, man wünschte, daß diese Probleme noch eingehender behandelt worden wären. — Den speziellen Teil beginnt Merkenschlagers: Pflanzenernährung und Pflanzenkrankheiten mit einem allgemeinen und einem speziellen Teil der nichtparasitären Phytopathologie. Merkenschlager ist durch seine umwälzenden Gedanken zur Ernährungsphysiologie in den letzten Jahren bekannt geworden, er verlangt, auch die Ernährung der Pflanzen im ganzen im Zusammenhang mit den Umweltfaktoren zu betrachten und zu untersuchen. Er beschäftigt sich zunächst mit Diagnostik nichtparasitärer Pflanzenkrankheiten und unterscheidet äußere und biochemische Symptome: Chlorose und Rötungen einerseits, Störungen im Stoffwechsel wie Vergiftungen anderseits. Einen breiten Raum nehmen Mangel- und Überschußkrankheiten ein. Besonderes Interesse finden beim Pflanzenarzt die Abhandlungen über spezielle nichtparasitäre Krankheiten wie Dörrfleckenkrankheit des Hafers, Herz- und Trockenfäule der Rüben, Urbarmachungskrankheit u. a., zu deren Behebung Mangan-, Bor- bzw. Kupfersalze be-

nutzt werden. Allerdings ist zu beachten, daß bei der Anwendung dieser Stoffe „die geringste Überschreitung" des Schwellenwertes zu schroffen Rückschlägen führen muß und daß die Wirksamkeit genannter Stoffe in hohem Maße artspezifisch ist. Die Einführung therapeutischer Maßnahmen in der Phytopathologie ist Tatsache geworden.

Die Ernährung der Pflanze ist in ihrem Verlauf abhängig von den klimatischen Verhältnissen des Standorts; es folgt dementsprechend ein Kapitel Klima und Witterung als Ursachen nichtparasitärer Krankheiten. Daß Hiltner mit der Bearbeitung dieses Abschnittes betraut wurde, ist verständlich, hat er sich doch mit der Einwirkung klimatischer Einflüsse, besonders mit der Taubildung, eingehend befaßt. Den einzelnen Teilen: Licht und Strahlung, Temperaturbedingungen, Kreislauf des Wassers, sind klimatologische Hinweise vorangesetzt, die dem Praktiker ganz besonders willkommen sein werden. Daß für den Pflanzenbauer gerade dieser Teil Interesse findet, erklärt sich daraus, daß die durch Klimaverhältnisse verursachten Krankheitserscheinungen leichter als solche erkannt werden, als es bei den durch ernährungsphysiologische Vorgänge verursachten der Fall ist. Die Einwirkung niederer Temperaturen ist besonders bearbeitet worden, sie gehört an sich direkt zu dem Abschnitt: Klima und Witterung. Daß bei dieser Arbeitsteilung Wiederholungen unvermeidlich waren, ist verständlich. Interessant ist Wartenbergs Schilderung der Bearbeitung des Problems: Kältetod. — Die beiden letzten Abschnitte erinnern äußerlich am meisten an die vorhergehenden Auflagen durch die Abbildungen, die m. E. modernisiert werden dürften, um sich dem Gesamtaussehen des Buches anzupassen.

Dem Verlag gebührt Anerkennung, daß er die Neubearbeitung ermöglicht; zu bedauern ist nur, daß der hohe Preis des Werkes vielen die Anschaffung unmöglich machen wird, denen es ein Führer und Berater sein könnte. Größere landwirtschaftliche und gartenbauliche Betriebe, Landwirtschafts- und Gartenbauschulen werden das Sorauersche Werk in seiner neuen Bearbeitung nicht entbehren können. Dem Ausland gegenüber ist es ein Beweis ernster deutscher Forschung, dem die Anerkennung nicht versagt bleiben wird. K. Ludwigs (Potsdam-Luisenhof).

Oppenheimer, C., Chemische Grundlagen der Lebensvorgänge. Eine Einführung in biologische Lehrbücher. Leipzig (G. Thieme) 1933. 298 S., m. 1 Abb. 22,50 RM. br.

Das, was dieses Buch in hohem Maße auszeichnet, ist nicht nur die Zusammenfassung der an sich schon sehr anziehenden problematischen Gebiete biochemischer Forschung, sondern darüber hinaus die übersichtliche, klare und fesselnde Art, mit der die oft verwirrende Fülle neuer Forschungsergebnisse dem Leser vermittelt wird. Während in dem vorliegenden Werk nur die neuesten Forschungsergebnisse und die darauf aufgebauten Theorien und die Richtungen, in denen die Wissenschaft weiter vorzudringen versucht, ausführlich geschildert werden, sind die bereits in die Lehrbücher als feststehende Tatsachen aufgenommenen Erkenntnisse nur soweit berücksichtigt, als sie zum Verständnis des behandelten Problems notwendig sind. Insofern muß Oppenheimers Buch eher als Ergänzung denn als Einführung in biologische Lehrbücher gewertet werden. Aber auch als Einführung in enger umrissene Teilgebiete der Biologie wird es sich bewähren,

zumal es Verf. wie nur wenigen gegeben ist, selbst schwer verständliche Wissenschaft in leicht begreiflicher Form darzustellen.

Der überaus reiche Inhalt, mit dem gesamten wesentlichen Schrifttum der neueren Zeit unterbaut, kann hier nur in großen Zügen wiedergegeben werden. Er ist in 5 größere Abschnitte eingeteilt: I. Die lebende Substanz als chemisches System, II. Baustoffe der lebenden Substanz (allgemeine Struktur und Übersicht über die Hauptgruppen wie Fette und Wachse, Lipoide, Kohlehydrate, respiratorische Pyrrolfarbstoffe, Proteine), III. Wege des Auf- und Abbaues der Nähr- und Zellstoffe, IV. chemische Mechanismen der Zellvorgänge (Katalyse und Fermente, allgemeine Bedeutung, Spezifität und Systematik der Fermente, Desmolyse, Bedeutung der Oberflächen) und V. Energetik der lebenden Substanz (Vorbemerkung, Energiesätze, die lebende Substanz als chemodynamische Maschine). Ein alphabetisches Sachverzeichnis ermöglicht das rasche Auffinden einzelner Teilgebiete.

Obwohl Verf., wie er selbst sagt, eigentlich nur mit der Biochemie des Menschen und der Tiere näher vertraut ist, muß anerkannt werden, daß es ihm voll und ganz gelungen ist, den Rahmen dieser biochemischen Grundlagen so weit zu spannen, daß das Buch auch für den Botaniker und vor allem den Mikrobiologen ein unentbehrlicher Führer bei der Erforschung des Lebens sein wird. Gerade die Mikrobiologie wird naturgemäß oft zur Beantwortung wichtiger Fragen, z. B. in der allgemeinen Biochemie des Zellstoffwechsels herangezogen. Außerdem ist es für den Mikrobiologen sehr erwünscht, wenn er sich an Hand eines so vorzüglichen Buches auch einen Überblick über den Stand der Forschung in der allgemeinen Biochemie des Menschen, der Tiere und der höheren Pflanzen und damit neue Anregungen verschaffen kann. Oppenheimer hat es ihm leicht gemacht.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Allgemeines und Methodisches.

Gintscheff, P. Z., Schutztrichter für Bunsenbrenner. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 130. 1933. S. 157—158.)

Der aus Eisen- oder Messingblech leicht herstellbare Schutztrichter (bezüglich Herstellung siehe Original) verhindert beim Ausglühen der Platinösen mit Sicherheit das sonst nicht selten unvermeidbare Abspringen oder Abtropfen noch infektiösen Materials auf den Arbeitstisch. Das Ausglühen geschieht dann im äußeren Flammenmantel (im inneren Flammenkegel gerät ein Teil des Platindrahtes in den Reduktionsraum der Flamme, was baldiges Abbrechen zur Folge hat). Die abspringenden Teilchen werden von dem höherstehenden Rand des Trichters abgefangen. Der Trichter verhütet außerdem das Ausgehen der kleingestellten Flamme durch Luftzug. Er ersetzt weiterhin den Dreifuß, und man benötigt nur ein Dreieck.

Rodenkirchen (Duisburg).

Dikomeit, B., Geruchlose Desinfektion mit sauren Rhodanidlösungen (Tonerde-Rhodan). (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 781—791.)

Der biologische Laboratoriumsversuch unter erschwerten Versuchsbedingungen hat die überragende bakterizide Eigenschaft des neuen Präparates mit starker Tiefenwirkung auch im eiweißhaltigen Medium erwiesen. Dabei ist Tonerde-Rhodan in Lösung vollkommen geruchlos und klar. Seine Ungiftigkeit geht daraus hervor, daß 100 ccm 0,35 proz. Lösung auf einmal getrunken werden konnten, ohne die geringste Belästigung auszulösen.

Sogar die enorme Dosis von 3 g Kaliumrhodanid pro Tag, irrtümlich eine Woche hindurch gegeben, wurde ohne erhebliche Nebenerscheinungen ertragen (geringfügige Akne). Bei wiederholter Händewaschung mit 1 proz. Lösung wurde nicht die geringste Reizung bemerkt, selbst bei Rhagadenbildung nicht einmal Brennen. Auch die empfindlicheren Schleimhäute (Conjunctiva, Nase) werden nicht gereizt. Ebensowenig konnte auf zu desinfizierende Gegenstände und Stoffe (Leder, Gummi, Holz, Papier, reine Seide, Kunstseide, Wolle usw.) irgendeine nachteilige Wirkung festgestellt werden. Ganz im Gegensatz zu alledem steht das sehr unangenehm riechende und stark reizende Chloramin, das einzige annähernd so gute Desinfektionsmittel wie Tonerde-Rhodan. Rodenkirchen (Duisburg).

Barssow, K. und **Sotschilowa, A.**, Zur Zählmethodik von B. coli mittels Membranfilter. (Microbiology. Vol. 2. 1933. p. 292—295.) [Russisch.]

Die genaueste Zählmethode von B. coli im Wasser ist. das Wasser durch eine Nitrozellulosemembran zu filtrieren und das Filter darauf auf Endonährboden zu übertragen. Die Methode hat jedoch ihre Mängel, die im reinen Wasser enthaltenen Saprophyten unterdrücken nämlich das Wachstum von B. coli auf dem Nährboden. Ferner bleibt B. paracoli, gleichfalls ein wichtiges Merkmal fäkaler Verunreinigung des Wassers, unbeachtet. Zur Beseitigung dieser Mängel wird ein Nährboden vom Endotypus bereitet, in welchem die Laktose durch Glukose ersetzt wird und der 0,1% Phenol enthält. Auf diesem Nährboden sind die Ergebnisse genauer, als auf Endonährboden, da B. paracoli sich gut entwickelt und typische Kolonien bildet, während das Wachstum der Saprophyten durch Phenol gehemmt wird. Bei Untersuchung des Wassers des Flusses Moskau nach dieser Methode und parallel nach der Methode von Marman wurden völlig übereinstimmende Ergebnisse gewonnen.

A. Imšenecki (Leningrad).

Harding, V. J., and **Nicholson, T. F.**, The Use of some Microorganisms in Sugar Analysis. (Biochem. Journ. Vol. 27. 1933. p. 1082—1094.)

Ein Stamm von Proteus vulgaris wurde als biologisches Reagens auf Glukose verwendet: Es lassen sich biologisch auch Mischungen von Glukose, Fruktose und Saccharose analysieren. Gewisse Pilzstämme sollen Maltose entfernen können, so daß diese qualitativ bestimmt werden kann, und zwar soll hierzu Monilia tropicalis fähig sein, in Verbindung mit Saccharomyces marxianus. Monilia krusei soll Glukose, Fruktose und Mannose entfernen können. Ein umfassendes System der Karbohydratanalyse durch Mikroorganismen wird beschrieben.

Nicol (Rothamsted).

Haupt, H., Über die Benennung des Streptococcus agalactiae und den Glukosezusatz zur Brownschen Blutplatte. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 130. 1933. S. 53—54.)

Der Zusatz von 0,05% Glukose zum Blutagar (nach Brown) läßt die Art der Hämolyse bei Streptokokken besser bestimmen. Insbesondere tritt dadurch die Alphahämolyse deutlicher in Erscheinung, ohne die Beta- oder Gammahämolyse zu verdecken. Rodenkirchen (Duisburg).

Malkow, A. M., Schnelle Autolyse der Hefe als Methode zur Bestimmung ihrer Widerstandsfähigkeit. (Gärungs-Industrie. Nr. 1. 1933. S. 33—37.)

Während der Autolyse der Preßhefe steigt unter dem Einfluß proteolytischer Enzyme die Menge des löslichen Stickstoffes. Der Gehalt des löslichen Stickstoffes schwankt in frischer Preßhefe von 0,07—0,14%. Da zwischen der Menge des löslichen Stickstoffes in der Hefe und der Resistenz der Hefe eine gewisse Abhängigkeit beobachtet wird, schlägt Verf. vor, schnelle Autolyse der Hefe als Methode zur Bestimmung ihrer Widerstandsfähigkeit anzuwenden. Die Autolyse wird im Schrank bei 100° C ausgeführt; dabei erweist es sich, daß die Stickstoffanhäufung analog der Anhäufung bei langsamer Verflüssigung der Hefe im Thermostat bei 35° C verläuft. Bearbeitung der Hefe mit Chloroform bewirkt gleichfalls schnelle Autolyse, Toluol ist im Gegensatz dazu ungeeignet, da die Autolyse langsam verläuft. Bei der Ausführung der schnellen Autolyse bei hoher Temperatur ist die genaue Bestimmung der Zeit in Minuten, die zur Verflüssigung der Hefe erforderlich war, höchst wichtig. A. Imšenecki (Leningrad).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Schlesinger, M., Beobachtung und Zählung von Bakteriophagenteilchen im Dunkelfeld. — Die Form der Teilchen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 774—780.)

Eingehende Darstellung der Bedingungen und Anwendungsmöglichkeiten der ultramikroskopischen Sichtbarmachung von subvisiblem Virus. So konnte durch Zählungen der Phagenelemente nachgewiesen werden, daß jedem optisch sichtbaren Phagenteilchen, sofern es seine Aktivität noch nicht eingebüßt hat, ein Loch im Agarrasen entspricht. Die Beobachtung der Einzelteilchen, deren Einheitlichkeit bezüglich Größe und Gestalt sich in der Homogenität des ultramikroskopischen Bildes offenbart, läßt mittels Azimutblende auf die (annähernde) Kugelgestalt der Phagenelemente schließen. Rodenkirchen (Duisburg).

Ruß-Münzer, A. und **Kindermann, V.,** Zum Nachweis phageninfizierter Stämme. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 401—404.)

Es gibt phageninfizierte Stämme, deren Filtrat bei wiederholter, eingehender Prüfung nach den üblichen Methoden zunächst phagenfrei erscheint. Nach wiederholtem Filtrieren und Wiederbeimpfen des Filtrates sind in dem Filtrat Phagen nachzuweisen, die aber nicht etwa als Produkt der Bakterien anzusehen sind, sondern schon in der Ausgangskultur vorhanden waren. Sie sind darin jedoch nur durch einen geeigneten empfindlichen Bakterienstamm nachweisbar, durch den die vorhandenen Phagen angereichert werden. Rodenkirchen (Duisburg).

Hoder, F. und **Lazarovich-Hrebelianovich, M. v.,** Zur Frage der Entstehung von Bakteriophagen im tierischen Organismus. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 115. 1933. S. 553—572.)

Der Bakteriophagengehalt des Rattenstuhles erwies sich ebenso variabel wie der des Hühnerstuhles. Täglich vorgenommene Untersuchungen er-

gaben häufig verschiedene Resultate, bakteriophagenreichen Stühlen folgten bakteriophagenarme oder, oft mehrere Tage hintereinander, selbst scheinbar bakteriophagenfreie. Die Verfütterung auch ungeheuer großer Mengen nicht bakteriophagenhaltiger Bakterien führte bei Ratten, Hühnern und Meerschweinchen nicht zur Entstehung von Bakteriophagen im Darm der Tiere. Scheinbar positive Ergebnisse sind entweder auf Bakteriophagenträgertum der verfütterten Keime oder auf eine ungenügende Voruntersuchung des betreffenden Tieres zurückzuführen. Die Verbreitung der Bakteriophagen findet hauptsächlich durch Aufnahme von Bakteriophagenträgern (lysinogenen Bakterien) statt. Rodenkirchen (Duisburg).

Hoder, F., Der gegenwärtige Stand der Bakteriophagenforschung. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 4. 1933. S. 589—635.)

Ein ausführliches Sammelreferat über die fast 200 Arbeiten der letzten 4 Jahre, das 1. Vorkommen, Entstehung und Eigenschaften, 2. Bedeutung in Therapie und Diagnostik, 3. Wirkung und Natur des Bakteriophagen behandelt. Eine endgültige Klärung über seine Natur ist noch nicht erreicht; doch glaubt Verf. „mit ziemlicher Sicherheit sagen zu können, daß der Bakteriophage kein Lebewesen sui generis ist". Rippel (Göttingen).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Yale, M. W., and **Kelly, C. D.,** Thermophilic bacteria in milk pasteurized by the high-temperature, short-time process. (N. Y. State Agr. Exp. Stat. Bull. 630. 1933. p. 3—23.)

Zur Untersuchung standen folgende Kurzzeiterhitzer-Systeme: Elektropure, Isotherm, Precision und York-Plattenerhitzer. Die Erhitzungstemperatur war 71,1° C. Zur Keimzahlbestimmung wurde sowohl die direkte mikroskopische, als auch die Plattenmethode herangezogen (Bebrütung 36—48 Std. bei 56—63° C). Als Ergebnis zeigte sich folgendes: Die Entwicklung thermophiler Bakterien in Kurzzeiterhitzern ist mehr auf den Regenerativteil und die anderen Apparateteile als auf den eigentlichen Erhitzerteil lokalisiert; denn in diesen Teilen herrschen Temperaturen von 49—60° C, die sich nahe der optimalen Wachstumstemperatur dieser Organismen befinden. Bei der eigentlichen Erhitzungstemperatur von 71,1° C konnte jedoch ein Wachstum der Thermophilen nicht beobachtet werden. Das Ausmaß der Vermehrung im Austauscher und in den Filtern ist abhängig von der Anfangszahl in der unbehandelten Rohmilch, der Dauer der Inbetriebnahme und der allgemeinen Betriebsführung. Folgende Tatsachen wurden als förderlich für Thermophilenentwicklung erkannt: 1. Wiederholte Pasteurisierung. 2. Zu langes Halten warmer Milch im Apparat wegen Betriebsstörung. 3. Benutzung desselben Filtertuches während mehr als 3 Std. 4. Anbrennen von Milchbestandteilen an die Innenfläche des Austauschers. 5. Ungenügende Sterilisation. — In 2 von den 9 Betrieben konnte praktisch keine Thermophilenentwicklung festgestellt werden, in 5 eine geringe und in 2 eine deutliche.

Ein Einfluß der Bauart der Erhitzer auf die Thermophilenvermehrung war nicht zu beobachten. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Demeter, K. J. und **Sauer, H.,** Lassen sich Beziehungen zwischen den Ergebnissen der Stallkontrolle nach dem Punktsystem und dem bakteriologischen Be-

fund der Milch aufstellen? (Milchwirtschaftl. Forschgn. 1933. 16. Bd. S. 33—62, 2 Textabb.)

Die Frage, ob Beziehungen zwischen der Punktbewertung an Hand der Stallkontrollkarte und dem bakteriologischen Befund der Milch bestehen, muß bejaht werden. Denn mit der Erhöhung der Gesamtpunktzahlen geht eine deutliche Verminderung der Gesamtkeimergebnisse sowie der Säurebildnerzahlen einher. Aus dem Verhältnis der Punktzahlen für „Methoden" der Milchgewinnung und „Ausstattung" des Stalles geht hervor, daß jene viel wichtiger für eine keimarme Gewinnung der Milch sind als diese. Dagegen erfaßt das Punktierungssystem der vorliegenden Stallkontrollkarte nicht die Bedingungen, die sich auf die Coli-aerogenes-Infektion der Milch fördernd auswirken. In verstärktem Maße gilt dies für die aeroben und anaeroben Sporenbildner, also anscheinend für die Bakteriengruppen allgemein. — Einen sehr guten zahlenmäßigen Ausdruck aller Beziehungen vermag der Rangkorrelationskoeffizient zu geben, durch sein Vorzeichen und durch seinen absoluten Wert. — Schließlich werden Vorschläge zur Vervollkommnung der Stallkontrollkarte gemacht, dergestalt, daß eine Erhöhung der Gesamtpunktzahlen für „Methoden" auf Kosten der „Ausstattung" vorgenommen würde. H. Mossel (Weihenstephan).

Grimes, M., The detection of the Escherichia-Aerobacter group in butter. (Journ. of Dairy Science. Vol. 17. 1934. p. 11—13.)

Es ist zu beachten, daß es insbesondere unter den Aerobacter-Stämmen Vertreter gibt, die bei der Gasprobe in Laktosebouillon ein negatives Ergebnis zeitigen, wenn die Bebrütung bei 37° stattfindet anstatt bei 21° C. Wenn weiterhin in Lackmusmilch sowohl bei 21° wie bei 37° C bebrütet wird, kann mitunter eine Gerinnung unter Säure- und Gasbildung beobachtet werden, während gleichzeitig in Laktosebouillon bei keiner dieser Temperaturen eine Gasbildung nachzuweisen ist. Auf Grund dieser Erfahrungen schlägt Verf. folgende Methode vor: Die Probeflasche samt der Butter wird in einem Wasserbad auf 40—45° C erhitzt und so lange geschüttelt, bis die Butter eine dünne rahmige Konsistenz angenommen hat. Hierauf wird 1 ccm der verflüssigten Butter zu 9 ccm ebenso angewärmten und sterilen Wassers gegeben und gründlich durchgemischt. Je 1 ccm dieser Suspension wird dann in 2 Lackmusmilchröhren verimpft, die eine wird bei 37° C, die andere bei 21° C bebrütet. Wenn Milchgerinnung unter Säure- und Gasbildung eintritt, wird aus der betreffenden Röhre auf Eosin-Methylenblauagar ausgestrichen, um die Anwesenheit der Escherichia-Aerobacter-Gruppe endgültig zu bestätigen. Auf die Laktosebouillon kann bei diesem Vorgehen vollständig verzichtet werden.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Wiley, W. J., Wood Taint in Butter: Laboratory Experiments with Special Reference to Pinus radiata (insignis) and Hoop Pine (Araucaria cunninghamii). (Journ. Council Sci. Ind. Research. Vol. 5. 1932. p. 5—14.)

Der Holzgeschmack, der Butter durch P. radiata verliehen, rührt von schwach ätherischen Ölen her. Der Geruch und der Geschmack, welche dann und wann von „Hoop Pine" stammen, sind durch verschiedene

Substanzen des Holzes entstanden, die nicht immer zu gleicher Zeit vorkommen. Verschiedenartige Verpackungen wurden untersucht; Cellophan „1200 waterproof" war das einzige Einschlagmaterial, das weniger durchlässig für die den Holzgeschmack bedingenden Öle war als zwei andere, billigere Cellophane und auch als das gewöhnliche Pergament. Eine einfache Laboratoriumsprüfung zur Bestimmung der die Butter verderbenden Eigenschaften des Holzes wird beschrieben. Nicol (Rothamsted).

Piratzky, W., Über die Beziehungen zwischen Zuckergehalt und Vergärung. III. Die Änderung des Zuckergehalts im Laufe der Gärung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 148—151.)

Der Zuckergehalt gärender Bierwürze nimmt mit Ausnahme der Angärung proportional dem Extraktschwund ab. Der in jeder Würze anwesende Rohrzucker wird vor dem Einsetzen der eigentlichen Gärung durch die Hefe invertiert, wodurch anfangs ein Ansteigen des scheinbaren Zuckergehaltes ausgelöst wird. Bei der Vergärung reiner Maltose ist kein Ansteigen des Zuckergehalts wahrnehmbar, es ist also außerhalb der Hefezellen keine Glukose vorhanden. Heuß (Berlin).

Stockhausen, F. und **Silbereisen, K.,** Über Flockung und Bruch verursachende Stoffe aus Brauereihefen. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 349—351, 357—362, 365—368.)

Bei Aufbewahrung gewaschener und mit Alkali behandelter Hefe unter Wasser bei Eisschranktemperatur findet schon in den ersten Tagen eine Art Autolysevorgang statt. Es werden an das Wasser eine Anzahl von Stoffen abgegeben, welche die durch die Alkalibehandlung entflockte Hefe wieder zur Ausflockung bringen und sich bei Zusatz zu entflockter Hefe in gleicher Weise als Fällungsmittel verhalten. Die Wirksamkeit solchen Hefewassers hängt ab von Zeit und Menge, d. h. von der Dauer des Verweilens der Hefe unter Wasser und der Menge Hefewasser, die zur Hervorrufung der Flockung entflockter Hefe verwendet wird. Die Flockungsstoffe stammen aus der Hefe selbst und werden von ihr dauernd gebildet. In dem Hefewasser sind hauptsächlich Hefegummi und Glykogen, ferner Phosphate und andere organische Salze vorhanden, die den Flockungseffekt hervorrufen. Sonst vorhandene, an dem Flockungseffekt unbeteiligte Stoffe sind: koagulierbares Eiweiß (Zymokasein + Zerevesin), Nukleoprotein und Aminosäuren, wie Tyrosin, Tryptophan, Histidin, Prolin und Adenin. Der Hefegummi besitzt etwas schwächeres Flockungsvermögen als das Glykogen. Dafür sind aber die im Hefewasser befindlichen Hefegummimengen bedeutend größer als die Glykogenmengen.

Es wird eine Methode zur Isolierung und Identifizierung der verschiedenen Hefewassersubstanzen beschrieben. Heuß (Berlin).

Kolbach, P. und **Naumann, H.,** Bisherige Ergebnisse der biologischen Säuerung von Maischen und Würzen. (Tagesztg. f. Brauerei. Bd. 31. 1933. S. 673—674.)

Für die biologische Haltbarkeit und die geschmacklichen Eigenschaften eines Bieres ist die Wasserstoffionenkonzentration von großer Bedeutung. Ein Mittel zu ihrer Beeinflussung hat man in der biologischen Säuerung mit Helfe des Bacillus Delbrücki, die man in der Würze, in der

Maische oder kombiniert in Würze und Maische durchführen kann. Als Substrat für den Erreger dient Vorderwürze, die man auf 47° C herunterkühlt, beimpft und 24 Std. sich selbst überläßt, wobei die Temperatur nicht unter 42° C sinken soll. Die Karbonate des Wassers erscheinen bei der biologischen Säuerung als Laktate im Wasser; sie verdient besondere Beachtung in solchen Jahren, in denen die Malze eine natürlich bedingte Säurearmut aufweisen. Bei den Versuchssuden wurde die Zugabe an Sauergut so bemessen, daß der sauerste Sud eine Vorderwürze von $p_H = 5{,}4$ gegenüber 5,8 in dem ungesäuerten Sud aufwies. Der p_H des Bieres wird durch die Säuerung der Maische nicht erniedrigt. Durch Säuerung der Würze kann man es aber beeinflussen. Die biologische Säuerung wirkte sich im Sudhaus, Gär- und Lagerkeller sehr gut aus, die gesäuerten Biere wurden den ungesäuerten in der Regel vorgezogen. Heuß (Berlin).

Brischke, G. W. A., Die Beseitigung der hartnäckigsten chronischen Infektionsquelle im Brauereibetrieb. (Tagesztg. f. Brauerei. Bd. 31. 1933. S. 182—184.)

Unter Restbier versteht der Brauer das im Gärkeller aus Vor- und Nachzeug gewonnene Bier, das im Lagerkeller aus dem Geläger gewonnene Bier, die Filteranläufe, die Filternachläufe, Bierreste und Rückbiere. Das Restbier ist fast immer mehr oder weniger stark infiziert, weshalb es vom normalen Bier getrennt gehalten zu werden pflegt. Da es aber bei der Verarbeitung die gleichen Leitungen, Filteranlagen und Abfüllvorrichtungen passieren muß, besteht stets die Gefahr der Infektion dieser Leitungswege und damit des guten Bieres. In richtiger Erkenntnis dieser Gefahrenquelle sind eine Reihe von Vorschlägen zur Vermeidung dieser Infektionsgefahr gemacht worden. Als radikale Lösung betrachtet Verf. die Aufstellung eines Seitzschen Entkeimungsfilters. Die Restbiere werden in einem Tank gesammelt wie bisher üblich. Man entkeimt die anfallenden Mengen täglich und gibt die Filtrate entweder gefahrlos auf die Bottiche oder Lagerfässer oder aber man verschneidet sie mit dem Abzugsbier. Heuß (Berlin).

Kretschmer, K., Filtrationsarbeiten. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 194—196.)

Für die Beobachtung des Filtrationseffektes in biologischer Hinsicht ist die viel verwandte Haltbarkeitsprobe allein nicht ausreichend und erfordert außerdem zu viel Zeit. Verf. empfiehlt auf Grund eigener Erfahrungen während der ganzen Filtrationsdauer 50-ccm-Fläschchen zur Hälfte mit Bier zu beschicken und sie nicht fest, sondern nur mit Watte zu verschließen. Die Kohlensäure wird durch vorsichtiges Bewegen in der Kälte aus dem Bier entfernt. Nachdem man von diesem Bier Platten mit gehopfter Würzegelatine gegossen hat, die man bei 15° C etwa 8 Tage beobachtet und dann auszählt, bewahrt man die Fläschchen im Brutschrank auf und beobachtet sie einige Tage lang auf Trübung und Absatzbildung. Will man ermitteln, ob im unfiltrierten Bier etwa vorhandene Bakterien — Stäbchen und Sarzinen — durch das Filtrieren entfernt werden, dann impft man in kleinen 15-ccm-Fläschchen 1 ccm des entkohlensäuerten Bieres in etwa 14 ccm kleistertrübes Bier ein und verschließt das Fläschchen luftdicht. Man findet mit Hilfe dieser Kontrollen bald den Zeitpunkt heraus, in welchem der biologische Effekt des Filters nachläßt bzw. erkennt, ob das Filter die Keime zurückhält. Ist dies nicht der Fall, so wird man zunächst durch Abänderungen

in der Komposition der Filtermasse Abhilfe zu schaffen versuchen, wobei auch der anderen wichtigen Komponente, der Filtermasseoberfläche, entsprechend Beachtung zu schenken ist, weil sie den Effekt weitgehend mit beeinflußt. Mit kleinerer Oberfläche muß die Schärfe des Filtermaterials erhöht werden, man wird, wenn nötig, zum Entkeimungsfilter seine Zuflucht nehmen. Heuß (Berlin).

Hallermann, Ad., Der Umbau einer Schwankhalle nach biologischen Grundsätzen. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 331—332.)

Auf der Schwankhalle der Brauerei wird das zurückkommende leere Geschirr gestapelt, das mit seinen Bierresten den biologischen Bestand der Luft erheblich verschlechtert. Auf der Schwankhalle befindet sich aber in der Regel auch die Picherei. Es ist nicht zu vermeiden, daß die infizierte Luft in die frisch gepichten Fässer gelangt und das abgefüllte Bier in seiner Haltbarkeit gefährdet. Durch Verlegung beider Arbeitsprozesse in getrennte Arbeitsräume kann diese Gefährdung des Bieres verhindert werden. Heuß (Berlin).

Janensch, Jr., Biologische Mitteilungen. Auftreten von Estergeruch im Lagertank in nachgestopftem Hopfen. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 286—287.)

Im Lagerkeller einer Brauerei zeigte das Bier aus Tanks, in denen Hopfen nachgestopft worden war, einen eigenartigen Estergeruch. Verursacht wurde er durch die Anwesenheit einer Kahmhefe vom Typus der Anomalusarten, die jedenfalls mit dem Hopfen in den Tank hineingelangte und dort Gelegenheit zur Vermehrung fand. Heuß (Berlin).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Ramsey, G. B., and Link, G. K. K., Market diseases of fruits and vegetables: Tomatoes, Peppers, Eggplants. (U. S. Departm. of Agric. Miscell. Publ. No. 121. 1932. 44 p.)

In gleicher Weise wie bei den Kartoffelknollen (vgl. Referat Link und Ramsey diese Zeitschrift Bd. 90, S. 96) sind in dieser Veröffentlichung alle in U.S.A. an Tomate, Paprika und Eierfrucht auf dem Markt vorkommenden pathologischen Erscheinungen, ihre Ursachen und ihre Verhütung bzw. Bekämpfung eingehend besprochen, wobei die Erkennung und Identifizierung der entsprechenden Krankheit bzw. Schädigung durch farbige Abbildungen wesentlich erleichtert wird. Stapp.

West, E., Powdery mildew of crape myrtle caused by Erysiphe lagerstroemiae, n. sp. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 814—819, 2 fig.)

Verf. beschreibt als Erreger eines Mehltaus an Lagerstroemiae indica Erisiphe lagerstroemiae nov. sp. Das Perfekt-Stadium des Pilzes wird nur selten gebildet. Die Überwinterung kann in den Blattknospen des Wirtes erfolgen. Die Bekämpfung ist durch Spritzung mit Schwefelkalkbrühe 1 : 80, sobald die Knospen im Frühjahr aufbrechen, möglich. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Creager, D. B., Leaf scorch of narcissus. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 770—786, 6 figs.)

Verf. beschreibt einen Blattbrand von Narzissen, der sich darin äußert, daß die Blätter 4—8 Wochen früher als normal absterben. Dieselbe Erscheinung kann auch an Amaryllis auftreten. Die Krankheit wird durch Stagonospora curtissii (Berk) Sacc. hervorgerufen. Durch Infektion mit Myzel und Sporen konnte der Beweis dafür erbracht werden. Es konnte nachgewiesen werden, daß der Pilz in oder an der Zwiebel überwintert. Von ihnen aus erfolgt die erste Infektion. Die Sporen schwanken äußerst stark in bezug auf Größe und Septierung. Manchmal sind alle Sporen klein und einzellig, unter anderen Bedingungen sind die meisten Sporen vierzellig. Die Hauptverbreitung der Sporen auf dem Felde erfolgt durch das Regenwasser. Der Pilz dringt durch die Kutikula ein. Ein interzellulares Myzel wird gebildet. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Miles, L. E., Control of gladiolus scab. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 802—813.)

Bacterium marginatum konnte an Gladiolenknollen am besten durch 5 Min. langes Tauchen in eine etwa 2,25proz. Lösung von Calogreen, eine Mercuri-Mercuro-Verbindung abgetötet werden. Eine 0,1proz. Sublimatlösung zeigte bei 12stünd. Anwendung die beste Wirkung. Dann folgte Semesan; Formaldehyd, Essigsäure und Gold Dust waren nicht genügend wirksam. Calochlor, ein Mercuro-Mercurichlorid, war zwar auch ziemlich wirksam. Es schädigte jedoch die Keimung und verzögerte das Wachstum. Die verschiedenen Gladiolensorten verhielten sich gegen die Mittel gleich. In den Boden gebracht, verhinderte Calogreen stark die Infektion vom Boden aus. Calochlor war zwar auch wirksam, schädigte aber. Semesan war nur schwach, Kalk überhaupt nicht wirksam. Gegen Blattinfektion wirkte Kupferkalkbrühe, der als Haftmittel Harzfischölseife zugesetzt war, besser als ein selbsthergestelltes Kupferstäubemittel.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Esau, K., Pathologic changes in the anatomy of leaves of the sugar beet, Beta vulgaris, affected by the curly top disease. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 679—712, 10 figs.)

Verf. untersuchte die Veränderungen, die im Rübenblatt bei Befall mit der „curly top"-Krankheit vor sich gehen. Untersucht wurden Blätter, auf die die Krankheit von Männchen von Eutettix tenellus übertragen war. Verwendet wurden für die Untersuchungen in Karpechenkos Chromsäure-Formalinlösung abgetötetes, fixiertes und mit Heidenhains Eisenalaun-Haematoxylin gefärbtes Material und auch frisches Material. Die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen sind in einer Reihe von Zeichnungen und Aufnahmen festgehalten.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Vaughan, E. K., Transmission of the crinkle disease of strawberry. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 738—740, 1 fig.)

Die „crinkle"-Krankheit der Erdbeere kann durch Myzus fragaefolii übertragen werden. Eine mechanische Übertragung durch Pfropfen, Verreiben von Blättern oder durch Extrakt von kranken Blättern war nicht möglich. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Walker, M. N., Occurrence of watermelon mosaic. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 741—744, 2 figs.)

Die Mosaikkrankheit der Wassermelone wurde zuerst im April 1932 in Polk Country (Florida) an je 2 oder 3 Pflanzen auf 2 etwas voneinander abliegenden Feldern beobachtet. Nach einiger Zeit hatte sich dann die Krankheit über die benachbarten Felder verbreitet. Verf. beschreibt eingehend die Krankheitssymptome. Die Übertragung konnte noch nicht näher untersucht werden. Es wurde jedoch ein starkes Auftreten von Aphis gossypii beobachtet. In der Nähe der am stärksten befallenen Fläche wurden 4 Pflanzenspezies festgestellt, die als wilde Wirtspflanzen der Krankheit in Frage kommen und zwar: Physalis ciliosa, P. angulata, Phytolacca rigida und eine nicht bestimmte Spezies von Asclepias. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Wolf, F. A., Roguing as a means of control of tobacco mosaic. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 831—833.)

Wenn gesunde Tabakpflanzen auf Feldern ausgepflanzt wurden, auf denen sich im vorhergehenden Jahre Mosaikkrankheit gezeigt hatte, so wurden zunächst nur wenige Pflanzen krank. Wurden diese sofort entfernt, so breitete sich die Mosaikkrankheit nicht aus. Beim Auspflanzen von Setzlingen aus infizierten Saatbeeten ist das Entfernen der kranken Pflanzen, sobald die Krankheit auftritt, nicht möglich, da der Prozentsatz kranker Pflanzen bereits zu groß ist. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Wolf, F. A. und **Moss, E. G.,** Effect of mosaic of flue cured tobacco on yield and quality. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 834—836.)

Verff. stellten fest, daß Menge und Qualität des Tabaks durch die Mosaikkrankheit stark beeinflußt werden. Die Herabsetzung des Ertrages betrug bis zu 39,4%, die Wertminderung bis zu 66,8%. Beide werden um so mehr herabgesetzt, je früher die Infektion erfolgt.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Price, W. C., The thermal death rate of tobacco mosaic virus. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 749—769, 2 figs.)

Das Virus in unverdünntem Saft aus mosaikkranken Tabakpflanzen wurde in 1 Min. bei 96° C, in 10 Min. bei 93° C, in 80 Min. bei 90° C, 32 Std. bei 85° C, 12 Tagen bei 80° C und in 40 Tagen bei 75° C inaktiviert. Nach 70 Tagen war die Inaktivierung bei 68° C noch nicht vollständig. In Saft, der mit Wasser 1 : 20 verdünnt war, war das Virus nach 1 Min. bei 92° C, in 10 Min. bei 88° C, in 70 Min. bei 85° C, in 13 Std. bei 80° C, in 72 Std. bei 75° C und in 20 Tagen bei 68° C inaktiviert. Versuche mit Verdünnungen durch Wasser und durch Saft aus gesunden Pflanzen zeigten, daß die Inaktivierung durch die Konzentration des Virus und durch den Gehalt des Saftes an festen Bestandteilen beeinflußt wird.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Stahel, G., Zur Kenntnis der Siebröhrenkrankheit (Phloëmnekrose) des Kaffeebaumes in Surinam. III. (Phytopath. Ztschr. Bd. 6. 1933. S. 335.)

In der vorliegenden III. Mitteilung setzt Verf. seinen Untersuchungsbericht über die interessante, durch den Flagellaten Phytomonas leptovasarum verursachte Krankheit fort (vgl. Mitt. I u. II, ebenda,

Bd. 4. 1931. S. 65 u. 539). Das äußere Krankheitsbild wird an Hand von klaren Abbildungen geschildert. Verf. unterscheidet eine akute und eine chronische Form, die durch Übergänge verbunden sind. Am häufigsten ist die chronische Form. Die Krankheitserscheinungen gleichen oft sehr stark gewissen Schädigungen, die durch ungünstige Standortsverhältnisse verursacht sind und sind dann nur schwer von solchen zu unterscheiden. Die Krankheitsübertragung gelang in vielen Fällen durch Wurzelpfropfung, hingegen war Okulieren von Rindenstückchen und Überpfropfen von dicken Zweigstücken ohne Erfolg, weil die Flagellaten in diesen Teilen im Gegensatz zu den Wurzeltransplantaten schon nach wenigen Tagen zugrunde gingen. Versuche, den Erreger auf leblosem Substrat zu kultivieren, waren erfolglos. Durch Untersuchung von lebenden Gewebeschnitten in Ringerscher Lösung, wobei die Flagellaten längere Zeit in den Siebröhren beweglich bleiben, konnte der Fortgang der Infektion im Weichbast weit besser verfolgt werden als an gefärbten Schnitten. Die Flagellaten breiten sich mit einer Geschwindigkeit von 35—40 cm pro Woche im Stamm aus. Die vorauseilenden Flagellaten sind besonders groß.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Sassuchin, D., Zum Studium der Parasiten vom Typus Protozoa bei Pflanzen des Südwestens RSFSR. (Zool. Anzeiger. Bd. 103. 1933. S. 304—306, 1 Abb.)

Im Milchsaft von Euphorbia uralensis im westlichen Kasakstan wurden Flagellaten gefunden: Phytomonas davidi, 10 bis 23 μ lang, 1,5 μ breit, mit dem Vorderende genähertem Kern und stark färbbarem Basalkörperchen. An anderer Stelle wurden welkende, kranke Euphorbiengebüsche untersucht und enthielten Mengen der Parasiten. Mit Hilfe einer kapillaren Pipette wurden gesunde Sträucher der Wolfsmilch infiziert und welkten ebenfalls. Der Flagellat ist also pathogen für diese Pflanze. Infektionsversuche an Nagetieren fielen negativ aus. — Das Insekt, welches die Flagellaten durch Saftsaugen aufnimmt und von Pflanze zu Pflanze überträgt, ist (für diesen Fall) noch nicht bekannt.

K. Friederichs.

Staniland, L. N., The treatment of Narcissus bulbs with hot water. (Journ. of the Ministry of Agriculture. Vol. 40. 1933. p. 343—355, 5 figs.)

Verf. stellte zunächst fest, wie lange es dauert, daß das Innere der Zwiebel eine Temperatur von etwa 43° C erreicht hat. Es sind je nach Größe der Zwiebel 23—150 Min. erforderlich. Zum Abtöten von Aguillulina dipsaci (Tylenchus dipsaci) bzw. dessen Eiern sind etwa 17 Min. lang Temperaturen von 43° C erforderlich. Als Mindestzeit für die praktische Bekämpfung hält Verf. 85—167 Min. für notwendig. Durch die Behandlung werden auch Milben und die Larven der Narzissenfliege abgetötet.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Godfrey, G. H. und Oliveira, Jul., Die Entwicklung des Wurzelnematoden in Beziehung zum Wurzelgewebe von Ananas und Kuhbohne. [The development of the root-knot nematode to root tissues of pineapple and cowpea.] (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 325—348.)

Verff. konnten das Eindringen der ersten Larven bereits 6 Std. nach dem Anlegen des Versuchs feststellen. Die Larven dringen am häufigsten

in das Meristemgewebe der Wurzelspitzen neben der Wurzelkappe ein, wandern dann 2—3 Tage im Gewebe und setzen sich um den 4. Tag endgültig fest. Das Kopfende sitzt meist in den Endodermiszellen der Korkschicht. Der Körper liegt in der Korkschicht mit dem Hinterende diagonal zur Wurzelspitze. In dieser Lage verharren die Weibchen dauernd, die Männchen bis zur letzten Häutung. 24 Std. nach dem Eindringen der Larven verzögert sich bereits der Wurzelwuchs; bei schwerer Infektion treten beträchtliche Funktionsstörungen auf, während in leichteren Fällen durch die Aktivität des Meristemgewebes ein erneutes Wachsen einsetzt. Die Zeit zwischen der Infektion und der ersten Eientwicklung beträgt bei Kuhbohnen (Vigna sinensis Endl.) 19 Tage, bei Ananas (Ananas sativus Schult.) 35 Tage. Diese Abweichung erklärt sich folgendermaßen: Die Eimassen treten bei Kuhbohnen häufig an den Wurzeln heraus, die unmittelbar darauf eine neue Larvengeneration in den Boden entlassen. Beim Ananas werden die Eier im Innern der Galle gebildet, wodurch sich die Bildung einer neuen Larvengeneration verzögert und dadurch auch die Entwicklungszeit verlängert.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Steiner, G. und Buhrer, E. M., Die braunen Ringsymptome bei Narzissen, die von Nematoden befallen sind, sind nicht spezifisch. (Phytopathology. Vol. 22. 1932. p. 927—928.)

Es wird darauf hingewiesen, daß das Auftreten brauner Ringe in Narzissenknollen nicht immer auf das Vorhandensein von Tylenchus dipsaci deutet. Die gleichen Symptome können vielmehr auch durch andere Nematoden hervorgerufen werden. Als solche kommen in Frage: Aphelenchoides fragariae Ritzema Bos, A. parietinus (Bastian), Aphelenchus avenae Bastian und auch Cephalobus striatus de Man. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Carroll, J., A study of the Potato Eelworm (Heterodera schachtii) in the Irish Tree State. (Journ. of Helminth. Vol. 11 3. 1933 6. p. 137—156.)

In den Cysten des Kartoffelnematoden können zwar die Eier mehrere Jahre am Leben bleiben, wenn die Cysten sich nicht entleeren, praktisch aber pflegt der Boden durch eine Unterbrechung des Kartoffelbaues für 3—4 Jahre von ihnen befreit zu werden; immerhin sind dem Verf. Fälle bekannt, daß Umwandlung des Ackers in Grasland für 3 Jahre nicht half, sondern die Kartoffeln nachher schwer befallen waren. Eine Beziehung zwischen dem p_H des Bodens und der Menge der Älchen besteht nicht. Versuche an Kartoffeln in Töpfen zeigten, daß die Krankheit wirklich durch den Wurm hervorgerufen wird und daß für die Schwere ihres Auftretens die Menge der Würmer wesentlich ist. Feld- und Topfversuche mit Creosot-Salzen zur Desinfizierung des Bodens schlugen fehl, so auch Versuche mit Naphthalin, Paradichlorbenzol, Cresylsäure-Emulsion, Schwefelkohlenstoff, Kupfersulfat, Kaliumpermanganat; nur Calciumcyanimid brachte einen gewissen Erfolg, indem die Pflanzen besser wuchsen und trugen, doch ist dabei zu bedenken, daß die Anwendung dieses Mittels eine zusätzliche Stickstoffdüngung bedeutet. Verf. hat keinen Befall anderer Kulturpflanzen als der Kartoffel durch H. schachti in Irland festgestellt; nur an einer Ampferart (curled dock) hat er diese Nematoden gefunden, ohne damit Kartoffeln infizieren zu können oder den Ampfer mit Kartoffelnematoden.

K. Friederichs.

Hazelhoff, E. H., Investigations on the White Top-borer. (Intern. Soc. Sugar Cane Technologists, Fourth Congress, San Juan, Puerto Rico. Bull. 66. 1932. 6 p.)

Gewisse Varietäten des Zuckerrohrs werden stärker von den Raupen der Scirpophaga auriflua befallen als andere, weil ihr Blattstiel weicher ist, wie sich bei quantitativer Bestimmung der Trockensubstanz zeigte. Gegenden in Java, die niederschlagsreich sind, haben schwereren Befall als solche mit ausgesprochener Trockenzeit, weil das Verhältnis der Trockensubstanz zum Wassergehalt der Pflanze mit der Menge der Niederschläge zu- und abnimmt. Die frisch ausgeschlüpften Räupchen haben weniger Aussicht, zu überleben, wenn der Blattstiel hart ist, als bei Varietäten mit weichem Blattstiel; das Verhältnis kann für bestimmte Varietäten etwa durch die Zahlen 9 : 23 ausgedrückt werden.

K. Friederichs.

Graber, L. F., and Sprague, V. G., Alfalfa Yellows. (Science. Vol. 78. 1933 10. p. 385.)

Die kleinen Zikaden der Spezies Empoasca fabae verursachen in Nordamerika oft großen Schaden an verschiedenen Feldkulturen, u. a. an Luzerne, die infolge ihres Saugens im Wachstum zurückbleibt und vergilbt. Vor dem ersten Schnitt pflegt solcher Schaden nicht einzutreten, und man kann ihn auch für die spätere Zeit abwenden, wenn man mit dem ersten Schnitt wartet, bis die Zikaden ihre Eier in die Gewebe der Luzernepflanzen hineingelegt haben und diese dann schneidet, ehe die Larven aus den Eiern geschlüpft sind.

K. Friederichs.

Hadorn, C., Recherches sur la morphologie, les stades évolutifs et l'hivernage du Bostryche liseré (Xyloterus lineatus Oliv.). (Beih. Ztschr. Schweiz. Forstvereins. Nr. 11. 1933. 120 S., 77 Abb.)

Der Borkenkäfer Xyloterus lineatus ist in intensiv bewirtschafteten Nadelholzwaldungen sehr selten und daselbst auf Baumstümpfe angewiesen, weil er in ganz gesunden Bäumen niemals vorkommt. Die vom Sturm umgestürzten oder sonstwie dem Absterben geweihten Bäume, die er braucht, kommen in Menge nur in Wäldern vor, die sich selbst überlassen sind. Er hat aber eine Zuflucht in den Holzlagerstätten des Menschen gefunden, wo er in den lagernden Hölzern brütet. Die äußere und innere Morphologie erfährt in der vorliegenden Arbeit eine gut illustrierte Darstellung, ebenso die Entwicklung. Es wird der Nachweis erbracht, daß X. l. in der Bodendecke überwintert. Das Schwärmen erfolgt im schweizerischen Mittelland im März und April. Die Begattung erfolgt meist dann, wenn das Weibchen sich anschickt, die Eingangsröhre zu bohren. Das Weibchen stellt die Gänge her, das Männchen befördert das Bohrmehl hinaus. Das ganze Gangsystem liegt in einer zur Stammachse senkrechten Ebene. Mit der Eiablage beginnt die Kultur des Nährpilzes, der die Wände der Brutkammern mit einem weißen Rasen überzieht. Die Larve frißt diesen und auch das zur Erweiterung ihrer Zelle abgenagte Holz. Die Elterntiere entfernen den Kot und sorgen für Durchlüftung. Nur eine Generation entsteht jährlich. Entrinden des Holzes unmittelbar nach dem Fällen beugt dem Käferbefall mit Sicherheit vor, soweit das Holz in der Zeit von März bis Ende Oktober gefällt wird; das im Winter gefällte Holz dagegen muß durch Bespritzen

mit 8—10proz. Karbolineum geschützt werden. Auch können die Käfer in den Sägereien im Winterquartier vernichtet werden.

K. Friederichs.

Wiesmann, R., Untersuchungen über die Lebensgeschichte und Bekämpfung der Kirschfliege Rhagoletis cerasi Linné. I. Mitteilung. (Landwirtsch. Jahrb. Schweiz. 1933. S. 711—760, 27 Abb.)

Die Kirschfliege ist in der Schweiz neuerdings in steigendem Maße schädlich. Nach genauer Beschreibung aller Stände der Fliege unter Einschluß der Anatomie wird zuerst die Lebensdauer der Imago erörtert: Männchen durchschnittlich 23, Weibchen 30—31 Tage bei zusagender Nahrung. Die Eireifung dauert bei 18—20° C im Durchschnitt 11 Tage. Ohne Nahrungszufuhr können die Weibchen die Eier nicht zur Reife bringen; die Ablage unterbleibt bei weniger als 16—17° C. Es werden durchschnittlich 50—60, maximal 100 Eier abgelegt. Die Flugzeit dauerte 1932 vom 28. Mai bis 8. Juli. Selten werden größere Flüge ausgeführt. Zur Nahrungsaufnahme werden Blüten nicht besucht, sondern es werden die Ausscheidungen der extrafloralen Nektarien an der Blattbasis aufgeleckt oder auch Honigtau (der von Blattläusen herrührt). Die Larve entwickelt sich im Ei in 6—12 Tagen, sie wird reif in 30 Tagen. Die Verpuppung erfolgt nur 3 cm tief im Boden der Baumscheibe. Die Thermalkonstante der Puppe beträgt 195 Grade. Man kann danach die voraussichtliche Erscheinungszeit der Fliegen errechnen. Zur Entwicklung bedarf die Puppe der Einwirkung der Winterkälte; manche Fliegen erscheinen erst nach 2 Wintern. Odontothrips-Larven vernichten die Eier, die Schlupfwespe Phygadeuon sp. vernichtete 1933 31% der Puppen, eine Empusa befällt die Fliegen.

Alle Atemgifte versagten gegen die Puppen im Boden. Gut bewährt haben sich Obstbaumkarbolineen, am besten aber Rohpyridin. Billig und brauchbar scheint Abschälen und Kompostieren der Grasnarbe unter den Bäumen und Desinfektion (etwa mit Petrol) zu sein. Mit vergifteten Ködern für die Imagines konnte wegen regnerischer Witterung noch nichts erreicht werden.

K. Friederichs.

Van der Vecht, I., De Groote Peperwants of Semoenjoeng (Dasynus piperis China). Diss. Leiden 1933. 101 p. 1 Taf., 19 Abb.

Die Wanze Dasynus piperis, auf Java noch nicht gefunden, kommt sonst überall in den Pfeffergärten von Niederländisch-Indien (und nur in diesen) vor; sie saugt die Früchte an und bewirkt das Abfallen ganzer Fruchtstände; ernstlicher Schaden ist dadurch jedoch nur auf Bangka eingetreten. Die einzelnen Stadien werden abgebildet und beschrieben. Sehr auffällig sind die elliptisch verbreiteten und abgeplatteten mittleren Fühlerglieder des 1. bis 4. Larvenstadiums, deren Bedeutung Verf. jedoch nicht untersucht hat. Einige Angaben werden zur Epidemiologie und zur Verhütung des Schadens gemacht. Mehrere Eiparasiten werden beschrieben; ihre praktische Bedeutung für die Verminderung der Wanzen fällt sehr ins Gewicht.

K. Friederichs.

Werneck, H. L., Die Maulwurfsgrille (Gryllotalpa vulgaris Latr.) und ihre wirtschaftliche Bedeutung für Oberösterreich. (Neuheiten a. d. Gebiete d. Pflanzenschutzes. Jahrg. 26 5. 1933 10. S. 97—101.)

Die Maulwurfsgrille ist nach Verf. in Oberösterreich der am meisten gefürchtete Schädling aller Kulturpflanzen. Über die Lebensweise der Grille sind erstaunlich wenig Einzelheiten bekannt. Der schädliche Fraß, etwa an Wintersaaten, kann noch im November und schon wieder gegen Ende März stattfinden, der Hauptfraß fällt in die Monate Mai und Juni. Bereits Ende April werden die ersten Eier abgelegt; die Eiablage kann sich bis in den Oktober hinein fortsetzen. Die Struktur des Brutnestes wird beschrieben. Das Insekt sucht gern Schlupfwinkel auf, die dauernd gut mit Wasser versorgt sind, ohne naß zu sein; andauernde Trockenheit wird nicht vertragen, wenn nicht der Grundwasserspiegel erreicht werden kann. Starke Senkung des Grundwasserspiegels würde der Grille vielleicht das Leben unmöglich machen. Mit Vorliebe hält sie sich längs der Bäche und an Waldrändern auf. Ihre Beziehungen zu verschiedenen Bodenarten werden erörtert. Sehr toniger Boden wird gemieden. Eine Glühbirne von 16 Kerzen in 3,5 m Höhe lockte Hunderte von Grillen an, aber der richtige Zeitpunkt ist schwer zu treffen. Das nasse Jahr 1926 brachte zuerst eine erschreckende Vermehrung, dann aber raffte eine Pilzseuche die M. hinweg. Sie sterben auch massenhaft bei langer Trockenheit. Die wichtigsten Bekämpfungsmethoden, wie die Zinkphosphidmethode nach Malenotti und die Rumetanmethode nach Ritschl, befriedigen in österreichischen Verhältnissen nicht ganz. Verf. regt eine genaue Untersuchung der Lebensweise der M. und der Möglichkeiten ihrer Bekämpfung an. K. Friederichs.

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Holloway, T. E., A method of avoiding the destruction of Trichogramma in sugarcane fields. (Journ. econ. Entom. Vol. 265. 1933. p. 974—976.)

Die bei der Ernte des Zuckerrohrs in Louisiana zurückbleibenden Blätter pflegen verbrannt zu werden, wodurch man die schädlichen, im Zuckerrohr bohrenden Raupen von Diatraea saccharalis zu vernichten wähnt. Diese aber überwintern wohlbehalten in den Stoppeln, wogegen das Verbrennen zahllose nützliche Eiparasiten (Trichogramma) vernichtet oder ihnen das Winterquartier nimmt. Wo auf großer Fläche die Blattrückstände nicht verbrannt wurden, war im folgenden Jahre der Raupenschaden viel geringer, weil die Eiparasiten verschont blieben. Es kommt hinzu, daß die vergehenden Blätter den Boden besser düngen als die Asche. Die Pflanzer wollen aber auf das Brennen nicht verzichten, weil sie fürchten, daß die Blätter bei der Bestellung hinderlich sind; Verf. ruft zu seiner Hilfe die Bodenkundigen, Bakteriologen und Techniker auf, letztere, damit sie eine Maschine darstellen, die die Blätter so zerschneidet, daß sie die Bestellung nicht mehr stören können. K. Friederichs.

Guba, E. F., Bekämpfung des Wurzelknöllchennematoden in Gewächshäusern mit Schwefelkohlenstoff-Emulsion. [Control of the root-knot nematode in greenhouses with carbon disulphide emulsion.] (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 13.)

Zur Bekämpfung von Heterodera radicicola hat sich eine Bodenbehandlung mit Schwefelkohlenstoff-Emulsion bewährt, nach der wiederum normale Erträge von Tomaten erzielt worden sind. Eine Stammemulsion von 68% Schwefelkohlenstoff, 26% Wasser und 6% Harzölseife

wurde im Verhältnis 1 : 50 mit Wasser verdünnt und in einer Menge von 4,5 l je $^1/_{10}$ qm angewandt. Die Materialkosten betragen hierfür annähernd 3,8 Rpf. Zur gleichzeitigen Bekämpfung pathogener Pilze oder Unkräuter sind weiterhin 3 l Formaldehyd erforderlich, wodurch sich die Materialkosten um weitere 2,9 Rpf. je $^1/_{10}$ qm erhöhen. Vorheriges Entfernen stark befallener Wurzeln steigert die Wirkung der chemischen Behandlung. Mit der Neubestellung muß wenigstens 1 Woche nach der Bodenbehandlung gewartet werden. Schwefelkohlenstoff-Emulsion kann in Gewächshäusern angewendet werden, die nicht für eine Dampf- oder Heißwasserbehandlung des Bodens eingerichtet sind oder wenn aus irgendeinem anderen Grunde eine chemische Behandlung zweckmäßiger erscheint.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Molz, E., Die Bekämpfung des Rübennematoden mittels des Chlorkalk-Aktivierungsverfahrens. (Dtsch. Landwirtsch. Presse. Jahrg. 59. 1932. S. 371—372.)

Verf. berichtet über seine mit Chlorkalk erzielten günstigen Ergebnisse zur Aktivierung der Rübennematodeneier und -larven. Durch Zusatz von Ätzkalk wird die Aktivierungskraft des Chlorkalks noch gesteigert, so daß das Verfahren verbilligt wird und gleichzeitig eine Kalkdüngung der Felder ersetzt. Die Anwendung erfolgt zweckmäßig nach einer früh das Feld räumenden Neutralpflanze (Kartoffeln, Hafer, Weizen, Gerste, Bohnen, Möhren usw.) von Mitte Juli bis Ende August. Für $^1/_4$ ha sind mindestens 8 Ztr. Chlorkalk (20%) bzw. 8 Ztr. Chlorkalk und 4 Ztr. Ätzkalk erforderlich. Da noch eine größere Anzahl Larven nach der Behandlung am Leben bleiben und erst später absterben, empfiehlt Verf., im folgenden Jahr nochmals eine Neutralpflanze und danach erst wieder eine Wirtspflanze anzubauen. Für eine sachgemäße Unkrautbekämpfung ist besonders im ersten Jahr nach der Bodenbehandlung Sorge zu tragen, da auch manche Unkräuter (Hederich, Ackersenf, Hirtentäschelkraut u. ä.) Wirtspflanzen sind. Welche Wirkung die Anwendung von Chlorkalk im Felde auf den Nematodenbestand und auf den späteren Rübenbau ausübt, wird nicht mitgeteilt.

Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Rademacher, B. und Schmidt, O., Die bisherigen Erfahrungen in der Bekämpfung des Rübennematoden (Heterodera schachti Schm.) auf dem Wege der Reizbeeinflussung. (Arch. f. Pflanzenbau. Bd. 10 2. 1933. S. 237—296.)

Im Anschluß an die früheren Untersuchungen sollte geprüft werden, welche Stoffe zu einer künstlichen Herbeiführung der Entwicklung und der Entleerung der Cysten des Rübennematoden im Boden geeignet sind. Es wurden Versuche mit 321 Stoffen im Labor, mit 35 in Gefäßen und mit 14 im Freiland angestellt. Die meisten dieser Stoffe wirken je nach ihrer Konzentration entweder aktivierend (so besonders oxydierende Stoffe und Destillationsprodukte der organischen Substanz) oder aber lähmend bis tödlich (so besonders Nitrite, phenolhaltige und reduzierende Verbindungen und eine Anzahl Allylverbindungen). Im Gefäßversuch konnte mit manchen Mitteln der Boden weitgehend entseucht werden, nicht aber im Felde. Die Verseuchung wurde in den meisten Fällen herabgedrückt, aber diese Wirkung blieb in bescheidenen Grenzen. Für die Behandlung sind noch am ehesten Mittel geeignet, die in starken Gaben tödlich, in geringeren aktivierend wirken. Sie müssen gut mit dem Boden vermischt und gleichzeitig oder im Wechsel mit anderen Reizstoffen und Feindpflanzen mehrere Jahre vor dem

nächsten Anbau von Rüben angewendet werden. Wirtschaftlich ist das Aktivierungsverfahren auch bei Anwendung der billigsten Mittel unter jetzigen Umständen nicht. Ob obige Untersuchungen praktischen Wert gewinnen oder nicht, hängt davon ab, ob wir näheres in Erfahrung bringen über die Epidemiologie von Heterodera schachti. K. Friederichs.

Frickhinger, H. W., Ein Fortschritt in der Bekämpfung von Getreideschädlingen. (Tagesztg. f. Brauerei. Bd. 31. 1933. S. 214—215.)

Die zur Bekämpfung von Getreideschädlingen, besonders des gefährlichen Kornkäfers, verwendeten Gase können mit eigener Kraft große Getreidemengen nicht durchdringen. Die Bekämpfung solcher Schädlinge in großen Getreidesilos bot deshalb bisher große Schwierigkeiten. Mit Hilfe der in modernen Silos vorhandenen Lüftungseinrichtungen können die Bekämpfungsmittel — Äthylenoxyd (T-Gas), Areginal oder Blausäure (Zyklon B) — ohne Schwierigkeiten auch durch große Getreidemengen durchgeführt und die Schädlinge radikal vernichtet werden, wie bereits an mehreren Silos verschiedener Systeme experimentell bewiesen wurde. Heuß (Berlin).

Langenbuch, R., Sublimat, ein erfolgreiches und wirtschaftliches Bekämpfungsmittel gegen die Kohlfliege im Großanbau. (Dtsch. Landw. Presse. Jahrg. 59. 1932. S. 209—210.)

Feldversuche zeigten, daß eine zweimalige Sublimatgabe (0,06%) am 4. und 14. Tage nach dem Pflanzen die wirksamste Bekämpfungsform ist. Hierdurch konnten die Verluste von 53,9% (unbehandelt) auf 5,2% heruntergedrückt werden. Eine dreimalige Sublimatanwendung verbesserte das Ergebnis nicht. Die Kosten für Material und Lohn belaufen sich bei einer zweimaligen Behandlung je $^1/_4$ ha auf 22.— RM. Der hierbei erzielte Mehrertrag betrug 80,34 Ztr. je $^1/_4$ ha. Goffart (Kiel-Kitzeberg).

Tierkrankheiten. Tierparasiten.

Toumanoff, C., Action des champignons entomophytes sur la pyrale du maïs. (Annales de parasitologie. T. 11 2. 1933 3. p. 129—143, 3 pl.)

Laboratoriumsversuche zeigten, daß Pyrausta nubilalis-Raupen sich leicht durch bloße Berührung mit den Sporen von Aspergillus flavus, Beauveria bassiana und Isaria farinosa infizieren lassen. Die Infektion erfolgt durch die Haut hindurch. In wassergesättigter Luft erfolgt die Infektion ein wenig schneller als wenn die Luftfeuchtigkeit 46—70% beträgt, im übrigen haben die Unterschiede der Luftfeuchtigkeit nur eine sehr geringe Bedeutung für die Infektion. Hohe Luftfeuchtigkeit läßt aber die Fruchtträger schneller aus der toten Raupe hervorbrechen und begünstigt dadurch die Verbreitung des Insektenpilzes. Temperaturen zwischen 8 und 12° wirken etwas hinderlich bei der Infektion; im Bereich von 17—30° sind Unterschiede der Temperatur ohne Bedeutung. Starke Abkühlung der Insekten während einer Dauer von mehreren Tagen beeinflußt ihre Anfälligkeit für die Pilze nicht. Die Conidien derselben bewahren ihre Virulenz in den Kulturen sehr lange.

K. Friederichs.

Rühberg, W., Über eine Hefeinfektion bei Daphnia magna. (Arch. Protist.kde. Bd. 80. 1933. S. 72—100, 17 Abb., 1 Taf.)

Erkrankte Daphnien waren von einer erstaunlich großen Zahl hefeähnlicher Organismen erfüllt, die wahrscheinlich Schizosaccharomyceten sind. Die Hefen wandern durch die Darmwand, dringen aber nicht in Gewebszellen ein, sondern umlagern die verschiedensten Organe und werden im Blutstrom mitgeführt. Die Krebschen (Daphnia magna) erliegen den Parasiten. Reinkulturen zu erhalten, gelang nicht, doch wurde Wachstum der Hefe in einigen flüssigen Nährmedien festgestellt. Feste Nährsubstrate waren ungeeignet. Die Vermehrung erfolgt durch Teilung, nur ganz selten durch Sprossung. Die Infektion wird nicht auf die Eier übertragen. K. Friederichs.

Kofoid, C. A., and Mac Lennan, R. F., Ciliates from Bos indicus Linn. III. Epidinium Crawby, Epiplastron gen. nov. and Ophryoscolex Stein. (Univ. California Publ. i. Zool. Vol. 39 1. 1933. p. 1—34, 5 figs.)

Zu Epidinium werden nur die Arten mit 3 Skelettplatten gerechnet; für die mit 5 Skelettplatten wird ein neues Genus Epiplastron aufgestellt. Ophryoscolex war in Bos indicus nur durch die Spezies spinosus vertreten. Die Protozoenfauna in den Rindern von Ceylon und Vorderindien unterschied sich verhältnismäßig wenig: in den indischen Rindern gab es nur 2, in den ceylonesischen 6 Epidinium-Arten; Ophryoscolex wurde nur in zwei Rindern aus Indien gefunden. Weiter wurden 4 holotriche Ciliaten festgestellt.

K. Friederichs.

Kofoid, C. A., McNell, E., and Bonestell, A., Correlation of the distribution of the Protozoa in the intestine of Rattus norvegicus with the hydrogen ion concentration of the intestinal contents and wall. (Univ. California Publ. i. Zool. Vol. 39 8. 1933. p. 179—190, 3 figs.)

Trichomonas wurde im Coecum aller untersuchten Ratten gefunden, nicht allgemein im Ileum und im Colon. Es ist eine Beziehung nachzuweisen zwischen der Abnahme des ph des oberen Ileum und der Abnahme der Trichomonas darin. Hexamitus muris wurde im Duodenum und Jejunum nicht sehr oft gefunden, aber im Ileum in 57% der Fälle, im Caecum nur in 3%. Der ph schwankte in den positiven Fällen zwischen 5,98—8.27. Bei durchschnittlich 6,77 ph-Wert wurde Chilomastix bettencourti in der Mehrzahl der Fälle im Caecum festgestellt. Giardia war in 60% der Fälle, immer in nächster Nähe der Darmwand, zu finden, in größter Anzahl bei ph 6,45—6,52, während bei einem Durchschnitts-ph von 6,7 bewegliche Amöben bei 70% der Ratten vorhanden waren. Es wird die Diät angegeben, bei der die Ratten gehalten wurden.

K. Friederichs.

Ingles, L. G., Studies on the structure and life-history of Ostiolum oxyorchis (Ingles) from the California Red-legged Frog Rana aurora draytoni. (Univ. California Publ. i. Zool. Vol. 39 7. 1933. p. 163—178, 1 pl.)

Der Trematode Ostiolum oxyorchis lebt erwachsen in der Lunge von Fröschen (Rana aurora draytoni) in Kalifornien. Seine komplizierte Entwicklung macht er in mehreren Zwischenwirten durch.

Die mit den Faeces des Frosches abgehenden Eier liefern das Miracidium, nachdem sie von Lungenschnecken gefressen worden sind. Die Methode wird beschrieben, wie die Miracidien und die Sporocysten zur Untersuchung gewonnen wurden. Nachdem der Wurm als Cercarie die Schnecke verlassen hat, wird er von Libellenlarven durch den Mund oder durch den After (bei Atembewegungen, die das Wasser zu den Analkiemen einsaugen) aufgenommen. Nimmt die Larve zu viele Cercarien auf, so stirbt sie daran. Sonst entwickelt sich in der Libelle der Wurm zur Metacercarie; er wird dann encystiert in der Basis der Kiemen gefunden; später, nachdem die Libelle zum fliegenden Insekt geworden ist, befinden sich die Cysten in derselben Körpergegend, wo jetzt von den Kiemen nur noch eine elastische Membran geblieben ist, die die Cysten hält. Metacercarien, die aus Libellenlarven herausgeschnitten waren, wurden mit einer Pipette in den Mund von Fröschen praktiziert und diese dadurch infiziert. Hierzu konnten nur Frösche aus kleinen fließenden Gewässern dienen, die nicht von Natur infiziert waren, wie es bei denen aus Teichen regelmäßig der Fall war. Die Entwicklungszeiten werden angegeben. — Ostiolum confusum ist synonym mit O. oxyorchis. K. Friederichs.

Matthias, P. et **Boulle, L.,** Sur une larve de Chironomide (Diptère) parasite d'un Mollusque. (Compt. Rend. Séanc. Acad. Sci. Paris. T. 196 23. 1933 6. S. 1744—1746.)

Etwa 20 v. H. der Wasserschnecken der Spezies Limnaea limosa erwiesen sich als von der Larve einer Zuckmücke (Chironomide) parasitiert, die grün und rot gefärbt, in die Leber eindringt und sich davon ernährt. Sie ist morphologisch sehr ausgezeichnet durch den Besitz von 3 statt der gewöhnlichen 2 Augenflecken. Erwachsen verläßt die Larve die Schnecke, die dann zu sterben pflegt, spinnt einen (im Aquarium an der Glaswand angehefteten) Kokon und verwandelt sich darin in wenigen Tagen zur Nymphe. Als solche hat das Insekt an jeder Seite des Prothorax ein Büschel stark verzweigter weißer Fäden und ist sehr beweglich. Die bald schlüpfende Imago scheint eine neue Art zu sein. Die Eier werden an Wasserpflanzen in Form eines Bandes abgelegt. Die ersten Entwicklungsstadien der Larve sind bisher nicht gezüchtet worden, wahrscheinlich aber zu erblicken in gewissen freilebenden Larven, die in jenen Gewässern gefunden werden und den parasitischen Larven sehr ähnlich sind. K. Friederichs.

Verschiedenes.

Liebesny, P., Wertheim, H. und **Scholz, H.,** Über Beeinflussung des Wachstums von Mikroorganismen durch Kurzwellenbestrahlung. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 12. 1933. S. 141—145.)

Beschreibung von Bestrahlungsversuchen an verschiedenen Mikroorganismen in vitro im Kondensatorfeld eines Kurzwellensenders bei einer Wellenlänge von 15 m und unter einer Dosierung, die in den Nährkulturen keine irgendwie wachstumshemmende oder wachstumsfördernde Temperaturerhöhung zur Folge hatte. Von 16 Bakterienarten wurden 10 (Bact. pyocyaneus, Bact. ozaenae, Streptokokken und Staphylokokken) stark gehemmt, 4 (Rhinosklerom- und Friedländerbakterien, Pneumokokken und Gonokokken) deutlich gehemmt, eine (B. gangraenae pulpae) stark gefördert, eine (Bact. coli) blieb unbeeinflußt. Die-

selben Versuche bei Sproß-, Strahlen- und Hautpilzen ergaben bis auf eine Ausnahme starke Förderung des Wachstums. Die Bakterienabtötung durch Kurzwellenbestrahlung wurde nicht nur in vitro, sondern auch am lebenden Individuum erzielt. Bezüglich der Ursache der Strahlenwirkung ist anzunehmen, daß durch die Bestrahlung eine Veränderung der eiweißhaltigen Substanzen stattfindet. Ob diese Veränderungen jedoch durch Wirkungen und Änderungen der Atomenergien im Kondensatorfeld oder durch andere Ursachen bedingt sind, ist noch nicht geklärt.

Rodenkirchen (Duisburg).

Buchner, P., Studien an intracellularen Symbionten. VII. Die symbiontischen Einrichtungen der Rüsselkäfer. (Ztschr. Morph. Ökol. Tiere. Bd. 26 4. 1933. S. 709—777, 24 Abb.)

Symbionten der Rüsselkäfer sind stets Bakterien und befinden sich in besonderen Organen. Die Larven haben hierfür Ausstülpungen des Mitteldarms oder in der Gegend der Valvula intestinalis den Darm umziehende massive Mycetome oder unpaare Organe, unter dem Darm da gelegen, wo Vorder- und Mitteldarm sich vereinigen, oder solche, die im hinteren Bereich des Mitteldarms gelegen oder in das Fettgewebe eingepflanzte Zellnester sind. Bei den Apioninen treten die Pilzorgane meist in der Form von zwei keulenförmigen Anhängen auf, die einen zarten Stiel besitzen und sich nahe der Ursprungsstelle der Vasa Malpighi am Darm befinden. Oder ein großer Teil des Abdomens wird von einer fettkörperähnlichen Zellmasse eingenommen, die dicht mit Bakterien gefüllt ist. Diese Einrichtungen der Apionini werden aus der Larve in die Imago übernommen, sonst aber pflegen sich die symbiontischen Einrichtungen bei der Metamorphose stark zu verändern.

Bei allen Cleoninen wird die Übertragung auf die Nachkommenschaft durch „Bakterienspritzen" vermittelt: bakterienhaltige Drüsen, die auf der Haut am Abdomen ausmünden und bei der Eiablage Symbionten auf die Oberfläche des Eies bringen. In anderen Fällen wird die Endkammer der jungen Ovarien infiziert, und die Bakterien wandern in die heranwachsenden Ovocyten ein. In den jungen Hoden hingegen gehen sie ohne Vermehrung zugrunde. — Etwa 130 Rüsselkäferarten wurden untersucht; nicht bei allen konnten Symbionten nachgewiesen werden. K. Friederichs.

Aschner, M. und **Ries, E.,** Das Verhalten der Kleiderlaus bei Ausschaltung ihrer Symbionten. (Ztschr. Morph. Ökol. Tiere. Bd. 26 4. 1933. S. 529—590, 49 Abb.)

Die Symbionten der Kleiderlaus (Bakterien) können durch Exstirpierung der larvalen Magenscheibe entfernt werden. Zunächst treten keine besonderen Reaktionen der Laus ein, weil die Symbionten „nachwirken". Nach etwa 1 Woche aber tritt eine zunehmende Schwäche ein, Nahrung wird nicht mehr aufgenommen, und der Tod tritt stets vorzeitig ein. Bei Entziehung der Symbionten im 1. Larvenstadium kann höchstens das dritte Stadium erreicht werden, die Entwicklung zur Imago nur dann stattfinden, wenn zur Zeit des Eingriffs schon die 2 Häutung bevorstand. Symbiontenfreie Weibchen legen keine schlüpffähigen Eier. Männchen (bei denen, nachdem sie geschlechtsreif geworden sind, die Symbionten zu degenerieren pflegen) werden weniger geschädigt als Weibchen; als Larven aber sind beide Geschlechter gleich empfindlich. Bei partieller Entfernung der S.

wurden weniger schlupffähige Eier gelegt. In symbiontenfreien Eiern tritt die Differenzierung der sonst die S. enthaltenden Organe des jungen Tieres in völlig typischer Weise ein; zur Bildung derselben bedarf es nicht eines auslösenden Reizes durch die Bewohner. „Das Verhalten symbiontenfreier und symbiontenarmer Kleiderläuse lehrt uns, daß die Symbionten im Haushalt ihrer Wirte eine wesentliche, lebensnotwendige, physiologische Rolle spielen. Wir erkennen damit, daß die erbliche Endosymbiose auch physiologisch eine besondere Stellung unter den Wechselverhältnissen von Tier und Pflanze einnehmen und nicht ohne weiteres Parasitismus, Kommensalismus oder Gallbildungen zugerechnet werden darf."

K. Friederichs.

Stammer, H. J., Neue Symbiosen bei Coleopteren. (Verh. Dtsch. Zool. Ges. 1933. S. 150—155.)

Nach einer Übersicht über die bisher bekannten intrazellularen Symbiosen der Käfer berichtet Verf. über neue Beobachtungen, die die sehr allgemeine Verbreitung dieser Erscheinung bei Käfern erkennen lassen. Die Ipiden (Borkenkäfer) sind oft in der Endkammer ihrer Ovarien stark mit Bakterien infiziert; die B. sind bald breite Stäbchen (bei Eccoptogaster), bald kurze, keulige Fäden (bei Hylesinus), bald sind sie lang und oft spiralig gewunden (bei Hylastes). Wohlentwickelte paarige Pilzorgane besitzt die Larve von Nosodendron fasciculare; darin befinden sich sehr kleine Stäbchen. Nur als Imago untersucht ist bisher Trixagus dermestoides (Fam. Eucnemidae), der zwei, vielleicht drei Arten von Symbionten und mehrere verschiedene Mycetome aufweist. Zwei Symbionten hat auch der Blattkäfer Bromius obscurus in den Malpighischen Gefäßen und in Säcken des Darmes. Die Übertragung auf die Brut erfolgt durch Verunreinigung der Eischale. Ähnlich liegen die Dinge bei den Schildkäfern (Cassida), aber nicht alle Arten dieser Gruppe führen Symbionten: C. nebulosa und flaveola nicht. Besondere mit dem Darm in Verbindung stehende Mycetome hat auch der Weichkäfer Dasytes niger.

Die lebenswichtige Bedeutung der Symbionten für das Insekt ist in zwei Fällen bereits erwiesen worden, und Verf. erblickt demnach in diesen Erscheinungen echte Symbiosen und lehnt die Ansicht, daß es sich um hochgradig angepaßte Parasiten handle, ab. K. Friederichs.

Hendee, E. C., The association of the Termites, Kalotermes minor, Reticulitermes hesperus, and Zootermopsis angusticollis with fungi. (Univ. California Publ. i. Zool. Vol. 39 5. 1933. p. 111—134, 1 fig.)

Von Termiten besetztes Holz läßt oft gleichzeitige Tätigkeit von Pilzen darin erkennen. Es war zu untersuchen, ob gesetzmäßige Beziehungen zwischen diesen Pilzen und den Termiten bestehen. Es zeigte sich, daß keine besondere Beziehung zwischen bestimmten holzzerstörenden Pilzen und bestimmten Arten von T. besteht, auch keine solche zwischen den Pilzen und der Holzart. Am häufigsten wurden Penicillium- und Trichoderma-Arten aus dem Holz isoliert. Bei Kalotermes war das Holz der Bauten wenig durch Pilzwachstum verändert, bei den anderen Termiten dagegen in der Regel dadurch in Auflösung. Die T. erwiesen sich als fähig zum Transport von Pilzsporen und Hyphen. K. Friederichs.

Abgeschlossen am 8. Mai 1934.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 90. No. 9|13.
Ausgegeben am 2. Juli 1934.

Nachdruck verboten.

Über die Verbreitung der Nitrifikationsbakterien in verschiedenen Stallmistsorten.

[Aus dem Institut für Pflanzenphysiologie und Agrikulturchemie der Universität Poznań, Polen.]

Von **B. Niklewski.**

1. Einleitung.

Bei den Untersuchungen der Stallmistrotte ist seit Jahrzehnten die Stickstofffrage in den Vordergrund getreten; mit Rücksicht auf den Wert und den hohen Bedarf der Pflanze an Stickstoff haben die Umwandlungen und Verluste dieses Nährstoffes im Stalldünger eine eingehende Bearbeitung erfahren. Doch haben die Kenntnisse dieser Prozesse nicht ausgereicht, das Wesen der Düngerrotte zu erfassen. Es ist daher nicht möglich, bezüglich des seit 20 Jahren bekannten und diskutierten Heißmistverfahrens nach Krantz, ein klares Urteil zu fällen. Zahlreiche einschlägige Arbeiten haben nicht zu einem endgültigen Resultat geführt. So leugnet Gerlach den Wert der anfänglichen lockeren Lagerung des Heißmistes, wenn auch der Nutzen des Hoch- und Festlagerns zugegeben wird. In einer anderen Arbeit von Gerlach und Seidel wird hervorgehoben: „Wir konnten nicht finden, daß bei dem Heißmistverfahren die Verluste an organischer Masse und Stickstoffverbindungen grundsätzlich geringer waren als bei der bekannten sorgfältigen Behandlung des Stalldüngers in der Kälte."

Dagegen sieht G. Ruschmann in dem Heißmistverfahren nach Krantz den bedeutendsten Fortschritt in den Methoden der Düngerrotte, wie dies aus folgenden Worten ersichtlich ist: „Aus dem bisher über die Heißvergärung des Stalldüngers Gesagten geht somit hervor, daß die Aufgabe, gleichzeitig eine gute Rotte und eine weitgehende Bewahrung der Trockensubstanz zu bewirken, trotz der Gegensätzlichkeit der Forderungen wider Erwarten bis zu einem hohen Grade gelöst worden ist. Möglich war dieser Fortschritt nur durch die erstmalige volle systematische Ausnutzung des Temperaturfaktors bei der Stalldüngervergärung, wie es H. Krantz gelehrt hat. Der Erfolg beruht auf dem eigenartigen günstigen Zusammenwirken biologischer und chemischer Kräfte in den beiden aufeinanderfolgenden Phasen."

Dieser Autor weist insbesondere auf den Wert der Vergärung der stickstofffreien Kohlenstoffsubstanzen sowie der Humifizierung in der Düngerrotte hin, indem er annimmt: „Höchstwahrscheinlich haben die entstandenen Humusstoffe für den zu düngenden Boden die allergrößte Bedeutung." In dem Urteil der Bewertung des organischen Düngers, insbesondere des heißvergorenen Mistes, wird er von einem der bedeutendsten Bodenbakteriologen, von F. Löhnis, unterstützt. Dieser schätzt auf Grund mehr-

jähriger Feldversuche den Wert von Hof-, Tiefstall- und Edelmist im Durchschnitt auf: 3 : 4 : 7 ein. Auf Grund von Feldversuchen konnte Glahte feststellen, daß die Steigerungen der durch Heiß- und Kaltmist erzielten Roherträge im Verhältnis von 1,85 : 1 standen. Löhnis und Ruschmann erklären die günstige Wirkung heiß vergorenen Düngers damit, daß durch reichliche Bakterienentwicklung bei Luftzutritt und Temperaturerhöhung, besonders der thermophilen Organismen, die Prozesse eingeleitet und besonders die leichtzersetzlichen Substanzen oxydiert werden; da nun aber nach dem Zusammenpressen der Düngers die Bakterienentwicklung sowohl der mesophilen wie thermophilen Flora stark herabgedrückt wird und in den hohen Stapeln bei Luftabschluß die chemischen Prozesse weitergeleitet werden, so wird im Edelmist ein an Keimen verhältnismäßig armer Dünger gebildet, der reich an milden Humussubstanzen ist, die durch Kondensation von Aminen bzw. Ammoniak mit Kohlenhydraten entstanden sind.

Durch diese wichtigen Untersuchungen der beiden Autoren wird das Wesen der Düngerrotte nunmehr vor allem auf die Wandlungen der Kohlenstoffsubstanzen gelenkt. Nicht allein die Stickstoff-, sondern besonders auch die Kohlenstoffwandlungen sind für die Güte des organischen Düngers ausschlaggebend. Allein dieser Standpunkt hat in der Meinung der Theoretiker und Praktiker schwer durchdringen können, da wir allzu sehr im Banne der Liebigschen Theorie die Pflanzenentwicklung betrachten.

Diese Theorie hat uns die Humussubstanzen lediglich als Bildungselemente des physikalischen Baues des Bodens zu betrachten gelehrt. Und doch haben die Untersuchungen der letzten Jahre gezeigt, daß den Humusstoffen eine weit wichtigere Rolle zukommt, als die, welche ihnen nach dem Zusammenbruch der alten Humustheorie zugewiesen wurde.

Die neuen Versuchsresultate treten unserem Verständnis näher, wenn wir auf eine Reihe Errungenschaften zurückblicken, welche in den letzten 20 Jahren in der Pflanzenphysiologie gemacht wurden. Bereits 1913 hat G. Haberlandt Versuche mit Verwundung von Kartoffelknollen und Kohlrabi durchgeführt und festgestellt, daß Wundhormone gebildet werden, welche Zellteilungen und Wundkorkbildung hervorrufen. Die Hormone werden sowohl durch das Leptom, wie auch durch die abgetöteten oder auch nur verletzten Zellen gebildet. Im Jahre 1918 hat im Institut von W. Pfeffer Paál festgestellt, daß in der Spitze der Haferkoleoptile Substanzen vorkommen, welche die phototropische Reizung perzipieren und in den Geweben weiterleiten. Besonders ist aber die Frage der Wuchsstoffe durch Went und seine Mitarbeiter geklärt worden. Er hat die Stoffe in Agar-Agar diffundieren lassen und ihre Wirkung an dekapitierten Haferkoleoptilen geprüft. Durch Buy sind die Vorgänge beim Altern der Koleoptile untersucht worden. Von diesen Autoren, ebenso wie von H. Söding ist festgestellt worden, daß die alternde Koleoptile ihre hormonale Aktivität wie auch ihre Plastizität wie Elastizität verliert. J. van Overbeck hat den Einfluß des Lichtes auf Bildung, Transport und Wirksamkeit der Wuchsstoffe untersucht. N. Cholodny hat beobachtet, daß Wuchshormone sich in dem Zentralzylinder der Lupinuskeimlinge befinden. Einen wesentlichen Beitrag zur Kenntnis der Wuchsstoffe hat Niels-Nielsen gebracht, indem er das Rhizopin, einen durch Rhizopus suinus sezernierten Stoff, der das Wachstum der Haferkoleoptile beschleunigt, näher untersuchte, seine Löslichkeit in verschiedenen Lösungsmitteln, seine Thermostabilität feststellte. Van der Wej hat einen Wuchsstoff in jungen

Eleagnusblättern entdeckt, der in den Sprossen basalwärts diffundiert. Vagn Hartelius hat zusammen mit Niels-Nielsen einen Wuchsstoff „B" entdeckt, welcher die Aspergillusproduktion in Nährlösungen stark hebt, besonders dann, wenn ihm ein „Co"-Stoff zugeführt wird, welcher durch Salzsäure aus Filtrierpapier bzw. der Asche davon extrahiert wird. Dieser Wuchsstoff „B" wird aber besonders im Menschenharn gefunden, ebenso wie schon vorher Wuchsstoff „A" im Harn durch die Untersuchungen von Kögl und Smit nachgewiesen wurde. Die chemische Konstitution der Phytohormone bzw. Auxine ist durch die ausgezeichneten Untersuchungen von F. Kögl und seiner Mitarbeiter erforscht worden. Němec hat auf die durch Bakterienkulturen ausgeschiedenen Wuchsstoffe hingewiesen. Went hat die in Blättern auftretenden Hormone nachgewiesen, welche das Wurzelwachstum hervorrufen. Die Literatur der letzten 10 Jahre hat also allenthalben das Auftreten der Wuchshormone aufgedeckt.

Im Lichte dieser Untersuchungen erscheint es ganz natürlich, daß der organische Dünger: Stallmist und Kompostdünger, verschiedene Substanzen enthält, welche das Wurzelwachstum fördern. Es mag augenblicklich dahingestellt sein, ob jene Wirkungen lediglich dem kolloidalen Charakter der Humussubstanzen und anderer Stoffe zukommen oder ob der organische Dünger noch besondere hormonartige Stoffe enthält; die Tatsache des Vorhandenseins solcher Substanzen an und für sich ist für die Kenntnis der Pflanzenproduktion von weittragender Bedeutung. In Zukunft darf also bei Bewertung des organischen Düngers die Existenz jener Substanzen nicht übersehen werden.

Indem ich mir wohl bewußt bin, daß die Düngerrotte nunmehr noch von anderen Gesichtspunkten beurteilt werden muß, als es bisher geschah, will ich an dieser Stelle einen Beitrag zur Verbreitung der Nitrifikationsbakterien in verschiedenen Stallmistsorten liefern und damit meine früheren knappen Beobachtungen ergänzen (1910).

Immerhin ist das Vorkommen bzw. Fehlen der Nitrifikationsbakterien für die Bewertung der Düngerrotte deshalb wesentlich, weil diese Organismen indirekt zur Entwicklung des freien Stickstoffes beitragen, worauf meine im Jahre 1923 publizierten Versuche hinweisen. Ihr reiches Vorkommen ist also als Anzeichen einer schlechten Stickstoffkonservierung aufzufassen. Vorliegende Versuche haben die Kenntnisse der Stickstoffkonservierung unter verschiedenen Wirtschaftsverhältnissen vertieft und bringen auch nähere Angaben über das Auftreten des Nitrobacter Winogr. im Stallmist.

Die Untersuchungen sind seit 1930 unter Mitwirkung der Herren: W. Kluczyński, S. Sotowski, H. Marchwicki und J. Tomiński ausgeführt worden.

2. Methodisches.

Da die Nitrifikationsbakterien in Stroh, auf dem Boden des Stalles, im Staube der Straße und des Hofes allgemein verbreitet sind, so konnten die Untersuchungen sich nicht auf das bloße Feststellen des Vorkommens dieser Organismen beschränken, es mußte die Zahl der lebensfähigen Zellen in der Einheit der Substanz wenigstens ungefähr festgestellt werden. Zu dem Zwecke wurde die Verdünnungsmethode angewandt in der Art und Weise, wie dies in der 1910 publizierten Arbeit geschehen ist.

Die Proben wurden in aseptischer Weise entnommen. Da Herr Sotowski und Kluczyński unabhängig voneinander gearbeitet haben, so ist von jedem der beiden Herren eine andere Verdünnung angewandt worden. Kluczynski schüttelte 10 g Mist mit 100 ccm sterilisierten Wassers aus, davon wurde 0,1 ccm mit 100 ster. Wasser verdünnt und 10 ccm dieses Auszuges wurden wieder auf 100 ccm verdünnt.

Aus der ersten Verdünnung wurden zwei Nährlösungen, und zwar mit 1 ccm und 0,1 ccm geimpft, aus der zweiten Verdünnung wurden zwei weitere Nährlösungen mit 10 ccm und 1 ccm geimpft und aus der dritten Verdünnung endlich wurden drei Nährlösungen mit 5, 2 und 1 ccm geimpft. Wenn wir nun annehmen, daß in einer Kultur, in welcher der Nitrifikationsprozeß in Gang gesetzt worden ist, mindestens eine lebensfähige Zelle hineingekommen ist, so waren bei der positiven Reaktion der ersten Nährlösung mindestens 10 Keime in 1 g Stallmist enthalten, in der zweiten 100, in der dritten 1000, in der vierten 10 000, in der fünften 20 000, in der sechsten 50 000 und in der siebenten 100 000 Keime enthalten. Sotowski hatte die Verdünnungen etwas anders hergestellt. Er schüttelte 20 g Mist mit 800 ccm sterilem Wasser aus und 1 ccm wurde abermals mit 800 ccm sterilem Wasser verdünnt. Aus der ersten Verdünnung wurde eine Nährlösung mit 1 ccm, und die zweite Nährlösung mit 0,1 ccm beimpft, aus der zweiten Verdünnung wurde mit 10 ccm, 1 ccm und schließlich mit 0,35 ccm beimpft. Die positive Reaktion der ersten Nährlösung deutete mindestens auf 40, der zweiten auf 400, der dritten auf 3200, der vierten auf 32 000, der fünften auf 91 000 Keime in 1 g Mist hin.

Kluczyński hat die Mistproben nur auf den Gehalt an Nitrosomonas Winogr. untersucht und zu diesem Zwecke die Ammoniaknährlösung nach Winogradski verwandt. Sotowski hat in den von ihm untersuchten Proben beide Nitrifikationsbakterien bestimmt, und für die Feststellung des Nitrobacter Winogr. wurde die Nitritlösung nach Winogradski angewandt. Während das Auftreten der Nitrite mit der Diphenylprobe festgestellt wurde, wurde das Auftreten der Nitratbakterien erst mit dem Verschwinden der Nitritreaktion mittels der Trommsdorffreaktion bestimmt. Bei den Nitritbakterien wurde also das Auftreten derNitrite festgestellt, während bei den Nitratbakterien erst der Verbrauch der Nitrite festgestellt werden konnte. Die Kulturen wurden 4—5 Wochen lang im Thermostaten bei einer Temperatur von ca. 30° C gehalten und beobachtet. Das Verschwinden der Nitrite bei Nitrobacterkulturen wurde erst nach Ablauf von 3 Wochen geprüft.

Die Versuchsresultate.

3. Die Verbreitung der Nitrifikationsbakterien im Hofdünger.

Es wurden Mistproben von 2 offenen Düngerstätten untersucht. Kluczyński entnahm Proben von einer Düngerstätte einer ca. 60 ha großen Wirtschaft in Jerka, Kr. Kościan. Die Oberfläche der Düngerstätte betrug 6 × 12 m, die Stätte war 0,5 m vertieft und gepflastert. Es wurde dort der in der ganzen Wirtschaft produzierte Mist gestapelt, der also vom Rindvieh, von Pferden und Schweinen herrührte, aber es wurden auch verschiedene Abfälle der Wirtschaft sowie der Straßenschlamm zusammengetragen. Der untersuchte Mist war in den letzten 7 Wochen gesammelt. Die Proben wurden aus 3 Tiefen entnommen, 50, 100, 150 cm, und zwar je 2 Proben. Von jeder Probe wurden 2 Impfungen vorgenommen.

Von den 6 geimpften Proben zeigten 5 das Auftreten der Nitrosomonaskeime in allen angewandten Verdünnungen, so daß also die Zahl der Keime ungefähr auf 100 000 in 1 g Substanz geschätzt werden darf. In den stärkeren Verdünnungen machte sich die geringere Keimzahl deutlich darin bemerkbar, daß eine deutliche Nitritreaktion erst am 15.—17. Tage auftrat, während bei einer reichlichen Impfung eine starke Reaktion bereits am 8. Tage deutlich wurde. Nur in einer Probe, aus der Tiefe von 50 cm entnommen, war die Keimzahl geringer, sie war etwa auf 20 000 in 1 g zu schätzen.

Ein ähnliches Resultat erzielte Sotowski, der Proben von einer Düngerstätte der Gutswirtschaft Karczewo, Kr. Śmigiel, nahm. Der Mist war dort bis zu einer Höhe von ca. 90 cm gestapelt. Es wurden Proben aus 3 Stellen des Stapels entnommen, und zwar aus 3 Tiefen, von der Oberfläche, aus mittlerer und größter Tiefe, die also etwas geringer war als 90 cm, und zwar je 2 Proben. Es wurden also zusammen 18 Proben untersucht, von jeder je 2 Impfungen vorgenommen. Alle Impfungen ergaben im allgemeinen über-

einstimmende Resultate. Die erste Stelle wies 91 000 Nitrosomonaskeime in 1 g Substanz an der Oberfläche und in mittlerer Tiefe auf, in größter Tiefe sank die Zahl auf 32 000 herab. An zweiter Stelle war die größte Anzahl der Keime an der Oberfläche und in größter Tiefe, ca. 91 000, während in mittlerer Tiefe eine bedeutend geringere Anzahl der Keime sich bemerkbar machte, ca. 400. An 3. Stelle war die Keimzahl bedeutend geringer, 3200 an der Oberfläche und in mittlerer Tiefe, während in größter Tiefe sie 400 betrug. Daß die Zahl der geimpften Keime auf die Zeit des Auftretens der Nitritreaktion von Einfluß ist, beweist der Umstand, daß bei reichlicher Impfung eine schwache Reaktion schon nach 4 Tagen sich bemerkbar macht, während bei Impfung einer starken Verdünnung sie erst nach 20 Tagen deutlich wird. Dies hat offenbar seinen Grund in der langsamen Entwicklung der Nitrosomonaskeime, die ja autotroph sind; und deshalb eignet sich die Verdünnungsmethode zur annähernden Bestimmung der Keimzahl.

Wenn wir die Ergebnisse der beiden Versuchsansteller überblicken, so war die Keimzahl des Mistes aus der Wirtschaft Jerka etwas größer, vielleicht deshalb, weil dort nicht nur die Exkremente aller Tiere der Wirtschaft, sondern auch Straßenschlamm gestapelt wurde, während in der Gutswirtschaft nur Stallmist zusammengetragen wurde, Kompostdünger aber gesondert gestapelt wurde. Im allgemeinen zeigen die Versuche, daß der auf der Miststätte gestapelte Dünger sehr gute Existenzbedingungen für den Nitrosomonas bietet. Diese Bakterien finden sich reichlich selbst im Mist in einer Tiefe von 150 cm vor. Offenbar müssen dort noch gewisse Sauerstoffreserven vorhanden sein, doch müssen auch diese Organismen mit einer besonderen Fähigkeit ausgestattet sein, die geringsten Sauerstoffmengen an sich zu reißen. Allerdings bedürfte es besonderer Untersuchungen darüber, inwieweit in einer solchen Tiefe im Stallmist der Nitrosomonas den Ammoniak oxydiert, was mit Rücksicht auf die Stickstoffkonservierung wesentlich sein dürfte. Zur Erhaltung der Nitrosomonaskeime in größeren Tiefen trägt der Umstand bei, daß der täglich auf die Düngerstätte herausgetragene Mist sich mit Sauerstoff sättigt, der Harn tropft in die Tiefe bzw. wird durch das Regenwasser herabgespült, durch diese Zirkulation der Flüssigkeit wird der Luftsauerstoff in den Stapel hineingezogen. So kommt es, daß die Nitrifikationsbakterien sich ungehindert entwickeln können. Ein Hindernis könnte ein schnelles Aufstapeln bis zur entsprechenden Höhe bieten, dadurch würde der Mist weniger der Luft ausgesetzt sein, wie in der Tat das Stapeln des Mistes auf einer geringeren Oberfläche der Düngerstätte in manchen Wirtschaften üblich ist.

Die erhaltenen Ergebnisse stimmen also mit der bekannten Tatsache überein, daß der auf der Düngerstätte aufbewahrte Mist den Stickstoff schlecht konserviert.

Bezüglich der Entwicklung der Nitratbakterien (Nitrobacter Winogr.) geben die Impfungen von Mistproben auf die Nitritlösungen Aufschluß, die Ergebnisse sind in Tab. I zusammengestellt. Der Mist auf der Miststätte der Gutswirtschaft Karczewo war 120 cm hoch aufgestapelt. Überraschend war das Resultat, daß auch dieser Organismus im Stallmist unter den gegebenen Bedingungen sich gut entwickelt. Der Nitrobacter entwickelt sich besonders gut in den oberen Schichten, dagegen wird er in den tieferen Schichten bereits zurückgedrängt. Es mag dahingestellt sein, ob geringere Sauerstofftensionen oder höhere Ammoniakkonzentrationen die Ursache der Abnahme der Keime dieses Organismus mit der Tiefe bilden. Es dürfte also

wohl anzunehmen sein, daß in den oberen Schichten der Ammoniak zu Nitrat oxydiert wird, und dieser erst den Denitrifikationsbakterien anheimfällt; dagegen wird in tieferen Schichten, wenigstens ein Teil des Ammoniakstickstoffes nur zu Nitriten oxydiert, um sogleich in freien Stickstoff übergeführt zu werden.

Tab. I. (Sotowski.) Die Verbreitung des Nitrobacters im Mist auf der Düngerstätte in Karczewo, Kr. Śmigiel.

Die Probeentnahme erfolgte am 4. 6. 1931. Die +-Zeichen bezeichnen das Verschwinden der Nitritreaktion (Anwesenheit des Nitrobacter), die —-Zeichen bezeichnen das Verbleiben der Nitritreaktion (Abwesenheit des Nitrobacter).

Geimpfte Mistmenge	Probeentnahme												
	von	1. Stelle			2. Stelle			3. Stelle					
	aus d. Schicht	oberen		mittleren		unteren		oberen		mittleren		unteren	
in g	Impfung	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
	Verschwinden der Nitritreaktion																
0,025		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,0025		+	+	+	+			+	+	+	+	+		+	+	—	—	+	+
0,000312		+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—
0,0000312		+	+	—	—	+	—	+		—	+	—	—	+	+	—	—	—	—
0,0000109		+	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Die Mindestzahl der Keime in 1 g Mist		91000		3200		32000		91000		32000		3200		32000		40		400	

4. Die Verbreitung der Nitrifikationsbakterien im Tiefstallmist.

Es ist mit Rücksicht auf die Konservierung des Mistes zu unterscheiden, ob die Tiere im Stall angebunden stehen, oder ob sie sich ungebunden frei bewegen können.

Tab. II. (Kluczyński.) Die Verbreitung des Nitrosomonas im Tiefstallmist unter unangebundenem Jungvieh in der Wirtschaft Markowice, Kr. Środa.

Die Probeentnahme erfolgte am 4. 4. 1930. Die Zahlen bezeichnen den Tag des Auftretens der Diphenylaminreaktion, vom Impfungstage an gerechnet.

Geimpfte Mistmenge	Probeentnahme												
	aus der Schicht	15 cm				30 cm				40—45 cm			
	Probe	I.		II.		I.		II.		I.		II.	
in g	Impfung	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
	Reaktion												
0,1	schwache	10	10	8	7	12	14	10	11	14	14	12	13
	starke	17	14	12	12	15	18	16	16	18	17	15	16
0,01	schwache	10	10	10	0	12	0	0	0	0	14	14	0
	starke	18	14	13	0	16	0	0	0	0	18	17	0
0,001	schwache	12	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	20	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,0001	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Die Mindestzahl d. Keime in 1 g Mist		1000		1000		100		10		100		100	

Tab. III. (Sotowski.) Die Verbreitung des Nitrosomonas im Tiefstallmist unter unangebundenem Mastvieh aus dem Vorwerk Płastowo, gehörend zu Karczewo, Kr. Śmigiel.

Die mittleren und unteren Schichten waren trockener und locker infolge einer Einstreu von abgetrocknetem Kartoffelkraut. Die Probeentnahme erfolgte am 16. 1. 1931. Die Zahlen bezeichnen den Tag des Auftretens der Diphenylaminreaktion vom Impfungstage an gerechnet.

Geimpfte Mistmenge in g	Probeentnahme von	1. Stelle								2. Stelle							
	aus der Schicht	oberen				mittleren				unteren				oberen			
	Probe	I.		II.		I.		II.		I.		II.		I.		II.	
	Impfung	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
	Reaktion																
0,025	schwache	0	7	7	7	7	7	0	0	5	5	5	5	7	7	7	0
	starke	0	9	9	9	9	9	0	0	7	7	7	7	9	9	9	0
0,0025	schwache	0	0	0	0	9	14	9	0	7	7	7	7	7	9	0	0
	starke	0	0	0	0	16	16	16	0	9	9	9	9	9	14	0	0
0,000312	schwache	0	0	0	0	0	23	23	0	9	9	7	7	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	26	26	0	11	11	9	9	0	0	0	0
0,0000312	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	9	11	9	9	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	14	0	0	0	0
0,0000109	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	11	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	16	14	0	0	0	0
Die Mindestzahl der Keime in 1 g Mist . . .		40				3200				91 000				400			

Geimpfte Mistmenge in g		3. Stelle								4. Stelle							
	Reaktion																
0,025	schwache	13	0	0	0	9	9	11	9	9	7	7	7	13	11	15	13
	starke	16	0	0	0	13	13	13	13	99	9	9	9	15	13	24	15
0,0025	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	11	9	9	13	23	0	0	23
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	15	27	0	0	27
0,000312	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	15	13	13	13	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	23	16	16	16	0	0	0	0
0,0000312	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	15	14	14	14	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	17	16	16	16	0	0	0	0
0,0000109	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	16	16	18	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	23	23	23	0	0	0	0	0
Die Mindestzahl d. Keime in 1 g Mist		40				40				91 000				400			

Geimpfte Mistmenge in g		1. Stelle								2. Stelle							
	Reaktion																
0,025	schwache	6	14	0	20	5	5	5	5	6	6	6	6	6	8	8	8
	starke	0	23	0	23	7	7	7	7	8	8	8	8	10	10	10	10
0,0025	schwache	0	14	14	0	7	7	7	7	8	8	8	8	12	8	10	8
	starke	0	16	16	0	9	9	9	9	12	12	12	12	15	12	12	12
0,000312	schwache	0	0	0	0	11	9	0	0	12	12	12	12	15	12	12	12
	starke	0	0	0	0	13	13	13	13	15	15	15	15	17	15	15	15
0,0000312	schwache	0	0	0	0	13	13	0	0	14	14	14	14	0	15	15	15
	starke	0	0	0	0	16	16	16	16	16	16	16	16	0	20	20	20
0,0000109	schwache	0	0	0	0	16	16	16	16	16	16	16	16	0	15	15	15
	starke	0	0	0	0	22	22	22	22	22	22	22	22	0	22	22	2
Die Mindestzahl der Keime in 1 g Mist . . .		400				91 000				91 000							

Kluczyński hat Mistproben aus einem Stalle entnommen, wo Jungvieh ungebunden frei umherging, 7 einjährige Kühe (Fersen) in einem Stall von 4 × 8 m Größe, die Sohle bildete ein ungepflasterter, etwas durchlässiger Lehmboden; seit 3 Monaten hatte sich eine Schicht von 80 cm Mist gebildet, der an der Oberfläche mit Harn durchtränkt war. Aus den tiefsten Schichten wurden keine Proben entnommen. Das Resultat ist in Tab. II zusammengestellt. Der Stall gehörte einer mittleren Wirtschaft von ca. 40 ha in Markowice, Kr. Środa.

Trotzdem die Art und Weise der Mistkonservierung hier recht primitiv war, so war doch die Konservierung des Stickstoffes gut, da die Keimzahl des Nitrosomonas unter 1000, besonders in tieferen Schichten, auf eine Unterdrückung des Organismus hinweist. Der Unterschied der Stickstoffkonservierung im Tiefenstallmist gegenüber dem Hofmist tritt also hier scharf hervor.

Diesen Resultaten gegenüber schienen die Resultate, die Sotowski erhalten hatte und die in Tab. III zusammengestellt sind, zu widersprechen. Er hat Mistproben aus einem Stall des Vorwerks Płastowo, gehörend zu den Gütern Karczewo, Kr. Smigiel, entnommen. Es war das ein gepflasterter Tiefstall, in dem Mastvieh frei sich bewegte; Mist war bis zur Höhe von 70 cm aufgestapelt. Es wurden am 16. 1. 1931 Proben aus 4 Stellen entnommen. Das Resultat zeigte wider Erwarten, daß in den oberen Schichten die Entwicklung des Nitrosomonas zwar spärlich war, dagegen entwickelte sich der Organismus in tieferen Schichten sehr gut. Die Ursache lag darin, daß die oberen Schichten von Harn durchtränkt waren, die tieferen dagegen viel trockener und loser waren, da sie zum Teil aus abgetrocknetem Kartoffelkraut bestanden. Offenbar war die Durchlüftung der Schichten gut, die Einimpfung mit Nitrosomonas durch anhaftende Erde an dem Kartoffelkraut reichlich.

Zur Kontrolle der obigen Mutmaßungen wurden aus demselben Stalle am 2. 11. 1931 abermals Mistproben entnommen und Impfungen auf das Vorkommen des Nitrosomonas hin vorgenommen. Der Mist war in diesem Falle lediglich unter Anwendung von frischem trockenen Stroh hergestellt. Die Höhe der Schicht betrug 80 cm. Es zeigte sich, daß die Entwicklung des Nitrosomonas in diesem Mist kümmerlich ist, er tritt etwas stärker nur in den oberen Schichten auf.

Es zeigt sich also, daß im Tiefstall, wo die Tiere unangebunden umhergehen, der Mist gut konserviert wird, falls als Einstreu trockenes gesundes Stroh angewendet wird. Bei Einstreu von abgetrocknetem Kartoffelkraut wird die Stickstoffkonservierung schlechter, da diese Einstreu die Entwicklung des Nitrosomonas begünstigt.

Wenn wir nun erwägen, wie die Bedingungen der Stickstoffkonservierung sich in einem Tiefstallmist gestalten, wo die Tiere angebunden sind, so müssen besonders die Stellen der vorderen Teile des Viehstandes und gesondert die Stellen des hinteren Teiles eines Standes untersucht werden. Denn im hinteren Teile des Standes ist der Mist von Harn stark durchtränkt, während nach dem vorderen Teile hin der Mist viel trockener ist; bekanntlich wird bei der Bedienung der Mist nach dem vorderen Teile des Standes zu geworfen, während am hinteren Teile mit frischem Stroh gestreut wird.

Es wurden von Kluczyński Mistproben aus einem Kuhstalle einer Wirtschaft (ca. 60 ha) in Jerka, Kr. Kościan, entnommen. Die Sohle des Stalles bestand aus einem Zementboden, nach dem hinteren Teile der Stände leicht

geneigt. Der Überschuß der Jauche konnte durch Kanäle nach außen abgeleitet werden, jedoch war die Kanalisation so eingerichtet, daß ein Teil der Jauche auf dem Boden des hinteren Teils des Standes gestaut werden konnte. Der Stall war so eingerichtet, daß die Kühe ziemlich dicht nebeneinander standen, so daß sie sich nicht frei bewegen konnten und den Harn nach dem hinteren Teile des Standes abgeben mußten. Die Impfungen gaben folgende Resultate bezüglich der Verbreitung des Nitrosomonas in diesem Mist:

Tab. IV. (Kluczyński.) Die Verbreitung des Nitrosomonas in Tiefstallmist unter angebundenen Milchkühen in der Wirtschaft in Jerka, Kr. Kościan.

Die Probeentnahme erfolgte am 9. 5 1930. Die Zahlen bezeichnen den Tag des Auftretens der Diphenylaminreaktion, vom Impfungstage an gerechnet.

Geimpfte Mistmenge in g	Probeentnahme: Viehstand / Kuhstand	der vordere Teil											
		I.						II.					
	aus der Schicht	15—20 cm		25—30 cm		40—50 cm		20—30 cm		30—40 cm		40—50 cm	
	Impfung	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
	Reaktion												
0,1	schwache	4	5	4	5	5	4	4	5	4	4	4	5
	starke	6	8	7	8	7	7	7	8	7	7	6	8
0,01	schwache	6	5	5	5	5	5	5	5	4	4	4	5
	starke	8	8	8	8	7	7	8	8	7	7	7	10
0,001	schwache	6	6	8	7	6	6	8	6	5	4	5	6
	starke	9	9	11	10	9	10	11	9	8	7	7	10
0,0001	schwache	7	7	10	8	8	6	9	8	5	6	5	7
	starke	10	11	14	12	12	10	12	11	8	9	7	12
0,00005	schwache	8	7	0	0	8	8	9	9	5	6	5	7
	starke	12	11	0	0	11	12	13	14	8	10	10	11
0,00002	schwache	10	0	0	0	9	8	10	9	5	7	5	8
	starke	14	0	0	0	13	12	13	14	8	11	9	12
0,00001	schwache	0	0	0	0	10	0	11	0	7	7	8	9
	starke	0	0	0	0	14	0	16	0	11	12	11	14
Die Mindestzahl der Keime in 1 g Mist		50 000		10 000		100 000		100 000		100 000		100 000	

Die hierbei erhaltenen Ergebnisse sind recht charakteristisch. Während im hinteren Teile des Standes die Nitritbakterien fast völlig unterdrückt waren, offenbar infolge der starken Harnkonzentration, war der im vorderen Teile befindliche Mist reichlich mit Keimen des Nitrosomonas besetzt. Allein es wird in der Stickstoffbilanz des gesamten Mistes die Nitrifikation am vorderen Teile des Standes deshalb nicht sehr stark ins Gewicht fallen, weil doch nach vorne zu meistens der Kot samt Stroh hinübergeschafft wird, während der größte Teil des Harns in das Stroh, das am hinteren Teil des Standes lagert, hineinfließt. Die Entwicklung der Nitrosomonasbakterien am vorderen Teil des Standes ist wohl an die Oxydation nur eines geringen Teils des Ammoniakstickstoffes gebunden. Der Hauptteil des Stickstoffes wird am hinteren Teil des Standes durch die starke Harnkonzentration gut konserviert.

Doch wird dieses Resultat nur unter bestimmten Bedingungen der Mistaufbewahrung erreicht. Kluczyński hat nämlich aus der Wirtschaft Markowice (ca. 40 ha), Kr. Sroda, Mistproben entnommen, die Höhe

des gestapelten Mistes betrug 50 cm. Die Mistbereitung war hier nicht einwandfrei, da infolge Mangel an frischem, trockenem Stroh als Einstreu Stroh aus Kartoffelmieten und abgetrocknetem Kartoffelkraut angewendet wurde. Da das Streumittel nicht ganz trocken war, so wurde stark gestreut, so daß das Streumittel nur schwach mit Jauche getränkt wurde, wahrscheinlich ist auch eine starke Infektion mit Erde bzw. Nitrosomonaskeimen erfolgt. Im ganzen Kuhstand waren ziemlich gleichmäßig die Bakterien verteilt und waren, wenn auch nicht sehr reichlich, doch in genügender Anzahl vermehrt, bis etwa 20 000 in 1 g Substanz, meistens ca. 10 000.

Tab. IV. (Fortsetzung.)

Geimpfte Mistmenge in g	Probeentnahme: Viehstand / Kuhstand / aus der Schicht / Impfung	der hintere Teil I. 20—30 cm 1.	2.	I. 30—40 cm 1.	2.	I. 40—60 cm 1.	2.	II. 20—30 cm 1.	2.	II. 30—40 cm 1.	2.	II. 40—50 cm 1.	2.
	Reaktion												
0,1	schwache	8	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0
	starke	12	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0
0,01	schwache	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,001	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,0001	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,00005	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,00002	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,00001	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Die Mindestzahl d. Keime in 1 g Mist		100		0		0		10		0		0	

Auch haben Mistproben aus einem anderen Stalle nicht das Resultat ergeben, das wir erwarteten. Kluczyński hat im Stalle der Gutswirtschaft Kopaszewo, Kr. Kościan, Proben entnommen bei einer Höhe der Mistschicht von 70 cm, der seit 6 Wochen gesammelt war. Die Sohle des Stalles war so eingerichtet, daß der Überschuß der Jauche leicht nach außen abfloß. Die Probeentnahme ergab folgendes Ergebnis. (Tab. V.)

Hier zeigte sich zwar der Unterschied in dem Gehalt an Nitrosomonaskeimen im Mist des vorderen und des hinteren Teils des Kuhstandes, während im vorderen Teil ca. 50 000 Keime vorhanden waren, enthielt der hintere Teil weniger, ca. 1000. Aber diese Keimzahl ist doch hoch, sie weist darauf hin, daß der Stickstoff nicht gerade gut konserviert wird. Die Ursache liegt zweifelsohne in dem starken Abfluß der Jauche, die ungehindert aus dem Stall abfließt. Es liegt also im Interesse einer guten Stickstoffkonservierung, daß Jauche im Stalle wenigstens teilweise gestaut wird, wie dies in der Wirtschaft in Jerka der Fall war.

Ebenso haben die Versuche von Sotowski gezeigt, daß im vorderen Teile des Kuhstandes die Nitrosomonaskeime erheblich bessere Entwicklungsbedingungen haben als im hinteren Teile.

Tab. V. (K l u c z y ń s k i.) Die Verbreitung des Nitrosomonas im Tiefstallmist in Kopaszewo, Kr. Kościan.

Die nichtaufgenommene Jauche floß aus dem Stalle ab. Die Probeentnahme erfolgte am 8. 5. 1930. Die Zahlen bezeichnen den Tag des Auftretens der Diphenylaminreaktion vom Impfungstage an gerechnet.

Geimpfte Mistmenge in g	Probeentnahme: Viehstand / Kuhstand / aus der Schicht / Impfung	der vordere Teil											
		I.						II.					
		20—30 cm		30—40 cm		40—50 cm		15—25 cm		30—40 cm		40—50 cm	
		1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
	Reaktion												
0,1	schwache	5	5	5	6	11	18	10	8	5	6	5	7
	starke	8	8	8	9	16	12	12	11	8	10	8	10
0,01	schwache	5	6	6	6	12	10	12	9	6	6	6	7
	starke	9	9	9	10	18	15	16	13	8	10	10	11
0,001	schwache	6	6	8	7	14	10	14	10	8	8	8	9
	starke	10	10	11	11	18	16	18	15	11	12	11	13
0,0001	schwache	8	7	9	9	14	13	0	12	10	11	9	11
	starke	13	12	12	13	20	17	0	17	13	14	13	15
0,00005	schwache	9	9	10	9	0	0	0	0	10	11	10	13
	starke	14	13	15	13	0	0	0	0	14	14	14	17
0,00002	schwache	9	9	12	0	0	0	0	0	11	13	14	0
	starke	14	15	15	0	0	0	0	0	15	16	19	0
0,00001	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Die Mindestzahl d. Keime in 1 g Mist		50 000		50 000		10 000		10 000		50 000		50 000	

Tab. V. (Fortsetzung.)

Geimpfte Mistmenge in g	Probeentnahme: Viehstand / Kuhstand / aus der Schicht / Impfung	der hintere Teil											
		I.						II.					
		20—30 cm		30—40 cm		50—60 cm		20—30 cm		30—40 cm		50—60 cm	
		1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
	Reaktion												
0,1	schwache	8	7	8	9	18	10	10	0	8	9	7	8
	starke	12	10	12	13	11	14	14	0	12	12	10	12
0,01	schwache	8	8	10	11	9	11	0	0	10	10	10	12
	starke	12	13	14	15	14	15	0	0	14	14	12	15
0,001	schwache	12	10	10	0	10	0	0	0	14	12	13	12
	starke	18	15	17	0	15	0	0	0	17	16	18	16
0,0001	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0	0	0
0,00005	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,00002	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,00001	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Die Mindestzahl d. Keime in 1 g Mist		1000		1000		1000		100		10 000		1000	

Der Mist stammte aus Karczewo aus einem Kuhstall, wo er seit 7 Wochen bis zu einer Höhe von 120 cm gestapelt war. Auffällig war der Umstand, daß in den unteren Schichten die Nitrosomonaskeime in größerer Anzahl sich vorfanden. Trotzdem man versicherte, daß nur mit Stroh gestreut war, zeigte es sich doch, daß in jenen Schichten, die so reich an Nitrosomonaskeimen waren, trockenes Kartoffelkraut sich befand. Damit läßt sich also die hohe Keimzahl erklären.

Die Entwicklung des Nitrobacter (Winogr.) im Tiefstallmist.

Sotowski hat Aufschluß über die Verbreitung des Nitrobacter im Tiefstallmist gegeben. Die Zahl der Keime war im Tiefstallmist unter unangebundenem Vieh in Piastowo ähnlich, wie die Zahlen für die Nitrosomonaskeime. Die Keime beider Organismen sind aus denselben Proben bestimmt worden. Nur ist die Keimzahl für Nitrobacter etwas geringer. Dies scheint damit in Zusammenhang zu stehen, daß der Nitrobacter empfindlicher, namentlich gegen Ammoniakkonzentration, ist, als Nitrosomonas. Im allgemeinen ist aber die Keimzahl besonders in den mittleren wie unteren Schichten des Miststapels gering. Auch waren die Kulturen hier im allgemeinen schwächer, während sonst die Nitritreaktion in 12—14 Tagen verschwand, wurde in diesen Kulturen das Verschwinden erst nach 3 Wochen beobachtet.

Ebenso wurde die Verteilung des Nitrobacter in dem Tiefstallmist unter angebundenen Kühen festgestellt. Ebenso wie die Zahl der Nitrosomonaskeime steigt auch die des Nitrobacters in den Schichten, welche Kartoffelkraut enthielten. Im allgemeinen ist die Keimzahl des Nitrobacter geringer als des Nitrosomonas, damit erklärt sich auch, daß sich hier der Unterschied in der Keimzahl zwischen vorderem und hinterem Teil des Kuhstandes verwischt.

Aus den Untersuchungen der Proben des Tiefstallmistes geht also klar hervor, daß der Tiefstallmist im allgemeinen die Entwicklung der Nitrifikationsbakterien verhindert. Am besten ist die Stickstoffkonservierung in dem Mist, wo die Tiere sich ungehindert bewegen können. Wo die Tiere angebunden sind, ist die Verhinderung der Entwicklung der Nitrifikationsbakterien im hinteren Teile des Standes infolge der Durchtränkung mit Harn stark, dagegen können sich diese Organismen im trockeneren Mist des vorderen Teils des Standes gut entwickeln.

Um jedoch eine gute Stickstoffkonservierung zu erzielen, ist es nötig, daß der Abfluß der Jauche möglichst verhindert wird.

Für die Stickstoffkonservierung ist die Qualität der Streu wichtig, nur trockenes, reines Stroh eignet sich am besten. Mit Erde verunreinigtes Stroh, z. B. aus Kartoffelmieten, ebenso abgetrocknetes Kartoffelkraut erleichtert die Entwicklung der Nitrifikationsbakterien.

Der Nitrobacter entwickelt sich zugleich mit Nitrosomonas, so daß der Ammoniakstickstoff bis zu Nitraten oxydiert wird, um dann wieder reduziert zu werden. Jedoch geht die Entwicklung des Nitrobacter schwieriger vor sich, so daß die Keimzahl geringer ist als die des Nitrosomonas. In größeren Misttiefen wird der Nitrobacter zurückgedrängt, während der Nitrosomonas noch seine Existenzbedingungen findet.

5. Die Verbreitung der Nitrifikationsbakterien im Pferdemist.

Es wurden Proben Stallmist am 12. 4. 1930 aus einem Pferdestall der Wirtschaft Markowice, Kr. Środa, entnommen. Die Sohle des Stalles war gepflastert, jedoch konnte der Überschuß der Jauche aus dem Stalle abfließen. Der Mist war in einer Schicht von 50 cm aufgestapelt.

Es hat sich gezeigt, daß der Pferdemist fast völlig frei war von Keimen des Nitrosomonas, nur 2 von 4 untersuchten Stellen enthielten eine geringe Anzahl dieser Bakterien, nicht 1000 überschreitend.

Offenbar wirkte auf die Bakterien entwicklungshemmend eine Reihe von Faktoren: wie Temperatur, hohe Konzentration von Ammoniak, von Harn und wohl auch Sauerstoffmangel, verursacht durch die reiche Bakterientätigkeit.

Die Anzahl der Bakterien, die sich im Mist findet, dürfte auf Verunreinigung mit Erde zurückgeführt werden, die ja nicht auszuschließen ist.

6. Die Verbreitung der Nitrifikationsbakterien im Schafmist.

Da der hitzige, trockene Pferdemist sich als fast frei von Nitrosomonaskeimen erwiesen hat, so dürfte wohl auch angenommen werden, daß um so mehr im Schafmist die Nitrifikationsbakterien in ihrer Entwicklung unterdrückt werden. Wir waren erstaunt, als Proben aus einem größeren Stalle, in dem eine verhältnismäßig geringe Anzahl Schafe gehalten wurde, gehörend zur Universität, Abteilung für Landwirtschaft in Sołacz, zeigten, daß die Nitrosomonaskeime sich dort gut entwickelten. Proben, welche am 31. 3. 1930 von Kluczyński entnommen wurden, wiesen in verschiedenen Tiefen eine Anzahl von 10 000 bis 100 000 Keimen auf. Offenbar fanden diese Bakterien dort gute Entwicklungsbedingungen. Der Versuch wurde am 28. 4. 1930 noch einmal wiederholt, da die Befürchtung vorlag, daß Fehler begangen worden sind. Allein das Resultat war dasselbe. Es wurden am 5. 6. 1930 noch einmal Proben entnommen, welche ein gleiches Resultat aufwiesen. Trotzdem der Schafmist im allgemeinen trocken ist und eine starke Ammoniakkonzentration enthält, entwickeln sich in ihm die Nitrosomonaskulturen gut. Allein es entstanden Zweifel darüber, ob diese Resultate eine allgemeine Gültigkeit haben, da der Besatz des Stalles mit Schafen, die wissenschaftlichen Zwecken dienten, verhältnismäßig sehr gering war. Zur Behebung dieser Zweifel entnahm Kluczyński Proben am 12. 7. 1930 aus einem Stalle der Gutswirtschaft Turew, Kr. Kuścian. Das Resultat war dasselbe, wie bei den Proben von Sołacz. Die Proben zeigten eine sehr reichliche Entwicklung des Nitrosomonas im Schafmist.

Die Frage klärte sich erst, als Sotowski Proben aus einem Schafstall der Gutswirtschaft Karczewo, Kr. Śmigiel, entnahm. Der Schafstall des Vorwerks Wolkowo hatte 360 qm Oberfläche, der Besatz der Schafe war abnorm stark, es befanden sich dort 750 Schafe, also mehr als 2 Schafe auf 1 qm. Der Mist war in einer Schicht von 50 cm gleichmäßig gepreßt und völlig mit Harn getränkt. Das Resultat der Impfungen zeigte, daß der Mist fast völlig frei war von Nitrosomonaskeimen. Das Vorhandensein von Keimen in der oberen Schicht an 2 Stellen dürfte wohl als Verunreinigung mit Erde angesehen werden. (Tab. VI.)

Mit Rücksicht auf den Widerspruch mit den Resultaten Kluczyńskis hat Sotowski abermals Proben aus demselben Stalle entnommen,

und zwar einige Monate später, am 7. 5. 1931. Diesmal wurde aber eine größere Zahl der Nitrosomonaskeime gefunden und zwar in den obersten Schichten. Offenbar entwickeln sich in den oberen Schichten die Bakterien sehr gut. Die Ursache der von den vorigen Impfungen abweichenden Resultate besteht darin, daß jetzt in demselben Schafstall von 360 qm sich nur 400 Schafe, also ungefähr eine normale Anzahl, befanden. Offenbar ausschlaggebend war der Besatz des Stalles. Die Nitrifikationskeime werden dann vollständig unterdrückt, wenn der Besatz anormal hoch ist, annähernd 2 Schafe auf 1 qm.

Tab. VI. (Sotowski.) Die Verbreitung des Nitrosomonas im Schafmist aus dem Schafstall in Wolkowo, Vorwerk, gehörend zu Karczewo, Kr. Śmigiel.

Die Probeentnahme erfolgte am 20. 2. 1931. Die Zahlen bezeichnen den Tag des Auftretens der Diphenylaminreaktion vom Impfungstage an gerechnet.

Geimpfte Mistmenge	Probeentnahme von	I. Stelle				II. Stelle				III. Stelle			
	aus der Schicht	oberen		mittleren		unteren		oberen		mittleren		unteren	
in g	Impfung	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.	1.	2.
	Reaktion																
0,025	schwache	9	7	0	0	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	11	9	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0
0,0025	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,000312	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,0000312	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,0000109	schwache	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	starke	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Die Mindestzahl der Keime in 1 g Mist		400		0		0		400		0		0		0		0	

Sotowski hat auch die Verbreitung der Nitrobacterkulturen untersucht in dem ersten Falle, wo der Besatz des Stalles an Schafen stark war. Es hat sich gezeigt, daß auch der Nitrobacter im Stallmist fast ganz unterdrückt war. Die geringe Anzahl der Keime an 2 Stellen in der oberen Schicht weist nur auf die Verunreinigung des Mistes mit Erdteilchen.

Da die Frage des Besatzes des Stalles mit Tieren bisher noch nicht aufgetaucht war, erst bei der Untersuchung des Schafmistes, so konnte vermutet werden, daß vielleicht die antiseptische Wirkung des Schafharns gegenüber den Nitrifikationsbakterien schwächer ist als die der anderen Harne. Zur Entscheidung dieser Frage wurde Kuh-, Pferde- und Schafharn in gleicher Stickstoffkonzentration auf Kulturen von Nitrosomonas untersucht und miteinander verglichen; es wurde festgestellt, bei welcher Konzentration die Entwicklung der Bakterien unterdrückt wird. Die Nährlösung wurde mit einem Tropfen einer guten Nitrosomonaskultur beimpft und zu den einzelnen Kulturen wurde der Harn in verschiedener Konzentration des Stickstoffs zugesetzt. Es wurde beobachtet, wann die Bildung von Nitriten eintritt.

Bei der schwächsten Konzentration zeigten sich die Nitrite schon nach 6—8 Tagen, bei Zusatz von anderem Kuhharn erst nach 8—12 Tagen. Bei

einer stärkeren Konzentration unterdrückte der Viehharn die Nitrifikation vollständig, während der Pferdeharn erst bei noch stärkerer Konzentration hemmend wirkte. Schafharn wirkte am schwächsten, wie dies die Tab. VII zeigt.

Tab. VII. (Kluczyński.) Die Entwicklung des Nitrosomonas in Gegenwart verschiedener Harne. (Der Vergleich ist auf Grund gleicher Mengen Stickstoff durchgeführt.)

Die Zahlen bezeichnen den Tag des Auftretens der Diphenylaminreaktion vom Impfungstage an gerechnet.

N-Menge in 25 ccm Nährlösung in g	% N in Nährlösung	Harn	Kuh		Pferde		Schaf	
		Impfung	1.	2.	1	2.	1.	2.
		Reaktion						
0,25	1	schwache	0	0	0	0	0	0
		starke	0	0	0	0	0	0
0,125	0,5	schwache	0	0	0	0	0	0
		starke	0	0	0	0	0	0
0,063	0,25	schwache	0	0	0	0	24	34
		starke	0	0	0	0	38	46
0,031	0,125	schwache	0	0	11	13	10	14
		starke	0	0	16	19	12	19
0,015	0,063	schwache	12	8	6	7	8	7
		starke	18	14	9	11	11	12

Damit erklärte sich das Resultat der schwächeren Wirkung des Harns im Schafstall.

Diese Versuche haben also bewiesen, daß im Schafmist im allgemeinen die Nitrifikationsbakterien sich gut entwickeln und daher die Stickstoffverluste nicht allein auf einer Ammoniakverdunstung beruhen, sondern auch auf Entwicklung von freiem Stickstoff. Nur im Falle eines starken Besatzes des Schafstalles, wobei mindestens 1 Schaf auf 1 qm kommt, ist damit zu rechnen, daß die Nitrifikationsbakterien unterdrückt werden und damit die Entbindung von freiem Stickstoff verhindert wird. Der Einfluß des Besatzes des Stalles mit Tieren wird zweifelsohne auch bei den anderen Gattungen für die Stickstoffkonservierung in Frage kommen, jedoch ist diese Frage bei den Untersuchungen des Schafmistes deshalb aufgetaucht, weil der Schafharn die geringsten antiseptischen Wirkungen auf die Nitrifikationsbakterien ausübt.

7. Der Einfluß der Temperatur auf die Verbreitung des Nitrosomonas im Stallmist.

In Gemeinschaft mit H. Marchwicki.

Die Frage des Einflusses der Temperatur auf die Entwicklung des Nitrosomonas im Stallmist wurde deshalb besonders untersucht, weil gerade dieser Vegetationsfaktor die wichtigste Rolle im Heißmistverfahren nach Krantz spielt. Als die Vorzüge dieser Methode für die Pflanzenproduktion sich zeigten, glaubte der Verf. annehmen zu dürfen, daß infolge der Temperaturerhöhung die Nitrifikationsbakterien unterdrückt werden und dadurch eine bessere Stickstoffkonservierung veranlaßt wird. Es ist bekannt, daß Boul-

langer und Massol festgestellt haben, daß der Nitritbildner bei einer Temperatur von 45° C, der Nitratbildner bei 55° C in kurzer Zeit zugrunde geht, worauf R. Ruschmann hinweist (Bd. 73. S. 188). Der Verf. hat aber festgestellt, daß im Stallmist eine Selbsterhitzung auf 60° C die Nitrifikationskraft nicht herabsetzt, und er legt sich die Frage vor, ob der Unterschied in den Temperaturwirkungen auf Abweichungen im physiologischen Zustande der Bakterien beruht, oder ob im Mist noch andere Nitrifikationsbakterien, die etwa thermophil sind, vorkommen.

Marchwicki hat hierbei folgende Beobachtungen gemacht. Er erwärmte eine Stallmistprobe, die eine hohe Nitrifikationskraft besaß — Impfungen auf eine Minerallösung riefen die Nitritreaktion schon nach 5 Tagen hervor — 4 Tage lang auf 60° C, darauf führte er die Kultur in eine Temperatur von 30° C. Während des Erwärmens auf 60° gaben Impfungen keine Nitrifikationswirkungen. Jedoch 30 Tage nach dem Erwärmen konnte durch Impfungen eine Nitrifikation hervorgerufen werden, die allerdings sehr geschwächt war, da sie erst nach 14—20 Tagen deutlich wurde. Nitrosomonas wird also bei 60° sehr geschwächt, aber nicht abgetötet. Es zeigte sich ferner, daß die Temperaturwirkung von dem Grade der Befeuchtung mit Wasser abhängt. Je feuchter der Mist ist, desto eher gehen die Nitrifikationskeime bei Temperaturerhöhung ein. Auch scheint die Konzentration der Ammoniakdämpfe ausschlaggebend zu sein. Als nämlich ein an Ammoniak reicher Stallmist, welcher gut entwickelte Nitrifikationsbakterien enthielt, 4 Tage lang in einem mit Watte gut verschlossenen Kolben auf 60° C erwärmt wurde, gingen die Nitrifikationskeime ein. Dagegen schadete die unter sonst gleichen Bedingungen erfolgte Erwärmung nicht, wenn der Kolben gut gelüftet war und die Ammoniakdämpfe entweichen konnten.

Wenn auch die endgültige Entscheidung der Frage des Temperatureinflusses auf die Nitrifikationsbakterien eingehender Untersuchungen mit Reinkulturen bedarf, so sehen wir doch, daß die Beeinflussung des Organismus durch diesen Faktor im wesentlichen vom physiologischen Zustande abhängig ist. Das Resultat der Maximaltemperatur von 45° für den Nitritbildner, die durch Boullanger und Massol festgestellt worden ist, bezieht sich also lediglich auf den in mineralischer Nährlösung wachsenden Organismus. Unter natürlichen Bedingungen der Entwicklung dieses Organismus im Stallmist wird sich der Temperatureinfluß ganz abweichend gestalten. Bei guter Durchlüftung scheint der Organismus viel höhere Temperaturen ertragen zu können.

Daher dürfte es nicht Wunder nehmen, wenn die Nitrifikationsbakterien selbst in heißvergorenem Mist gute Entwicklungsbedingungen fänden.

8. Die Verbreitung der Nitrifikationsbakterien in heißvergorenem Mist.

In Gemeinschaft mit J. Tomiński und S. Sotowski.

J. Tomiński hat in der Gutswirtschaft Przybroda bei Rokietnica, Kr. Poznań, am 1. 12. 1930 einen Versuch in der Weise angestellt, daß er den Stallmist von 32 Kühen täglich in 2 gleiche Teile teilte. Der eine Teil wurde heißvergoren in einem Stapel aufgeschüttet, der andere Teil wurde sofort zusammengepreßt in Stapel gelagert. Beide Stapel waren nebeneinander in einer Entfernung von 1 m in einem Gebäude unter Dach aufgestellt. Sie waren also unter sonst gleichen Bedingungen, unterschieden sich nur dadurch, daß der heißvergorene Stallmist stets 3 Tage lang lose

dem Luftzutritt ausgesetzt war, während der andere Miststapel wie bisher üblich, „kalt" vergoren wurde. Die Stapel wurden in der Weise bis zum 2. 3. 1931 gestapelt bis zu einer Höhe von 2,60 m und wurden so bis zum 18. Mai belassen. Die Stapel, von denen ein jeder die Grundfläche von 2,20 × 1,60 m hatte, setzten sich während dieser Zeit, so daß sie im Mai nunmehr eine Höhe von 1,50 m hatten. Ohne auf die Einzelheiten des Versuches, der an anderer Stelle genauer beschrieben werden wird, näher einzugehen, mag hier nur hervorgehoben werden, daß die Temperaturunterschiede der beiden Stapel gut mit den in der Literatur gemachten Angaben übereinstimmen. Während die Außentemperatur während des Stapelns des Mistes in mäßigen Grenzen schwankte, zwischen + 10 und — 8° C, war die Temperatur in den ersten 3 Schichten mäßig, sie hob sich in dem kaltvergorenen Mist in den ersten 5 Tagen bis 40°, in dem heißvergorenen bis 55°. Dann aber stieg in der 4.–9. Schicht die Temperatur in dem Kaltmist in den ersten 5 Tagen bis 55° C, während der heißvergorene Mist am 3. Tage bereits 55° C erreichte und bis zum 5. Tage die Temperatur sich bis auf 65° C hob.

Am 18. Mai wurden die Stapel auseinandergenommen, und zwar schichtweise, genau so, wie die einzelnen Schichten gelagert waren. Dabei wurden neben den Proben für die chemische Analyse Proben aseptisch für die bakteriologische Analyse von Sotowski genommen, und dann in der üblichen Weise die Keimzahl sowohl für Nitrosomonas wie für den Nitrobacter bestimmt.

Aus diesem Versuche geht klar hervor, daß die Existenzbedingungen der beiden Nitrifikationsbakterien, besonders des Nitrosomonas, sowohl im Kaltmist wie im heißvergorenen Mist vorzüglich sind. Beide Mistsorten unterschieden sich in der Keimzahl gar nicht; sie betrug in den oberen fünf Schichten für beide Organismen bis 91 000. Erst in der 6. und 7. unteren Schicht fällt die Keimzahl erheblich, offenbar infolge Mangel an Sauerstoff. Daraus geht also hervor, daß der Unterschied von 10° C von 55—65° C in keiner Weise hemmend auf die Nitrosomonaskeime gewirkt hat. Auch war die Entwicklung von Nitrobacter in beiden Mistsorten erheblich, erst in der unteren 6. und 7. Schicht fiel die Keimzahl erheblich.

Die Resultate stehen scheinbar im Widerspruch mit den Beobachtungen von G. Ruschmann, der im Edelmist ein völliges Fehlen der Nitrifikationsbakterien festgestellt hat.

Es muß hervorgehoben werden, daß wir in unseren Versuchen keine ordnungsmäßigen Miststapel nach der Methode von Krantz hergestellt haben. Unseren Versuchsstapeln fehlt die Mächtigkeit und Höhe. Wenn wir aber Mistproben etwa aus der Mitte eines 5 m hohen Stapels entnehmen, so werden zweifelsohne diese Proben frei sein von Nitrifikationsbakterien, gleichgültig ob der Stallmist heiß oder kalt verrottet wurde, Sauerstoffmangel bewirkt das Eingehen der Nitrifikationskeime, wie auch unsere Versuche deutlich zeigen, daß der Mist in einer Tiefe von ca. 120 cm (d. i. in der Schicht 6 und 7) einen starken Rückgang der Keimzahl des Nitrosomonas aufweist, sowohl im heiß wie kalt verrotteten Mist.

Allein unsere Versuche an verhältnismäßig kleinen Stapeln sollten Aufschluß darüber geben, ob die Heißvergärung während der ersten 3 Tage einen Einfluß auf die Entwicklung der Nitrifikationsbakterien ausübt. Die Versuche haben unzweideutig bewiesen, daß jene Temperaturerhöhung keine hemmende Wirkung auf die Entwicklung dieser Organismen auszuüben vermag.

Im Einklang mit der Keimzahl der Nitrifikationsbakterien in den beiden verhältnismäßig niedrigen Miststapeln hat es sich gezeigt, daß die Stickstoffkonservierung beim Heißmistverfahren nicht besser ist, als im Kaltmist. Bei diesem Versuche — es wurden nämlich noch 3 andere solche Versuche durchgeführt — hat es sich sogar gezeigt, daß der heißvergorene Miststapel sogar etwas weniger Stickstoff am Ende des Versuches enthielt als der Kaltmist, allerdings lagen die Unterschiede in den unvermeidlichen Fehlergrenzen.

Wiewohl also die Stickstoffkonservierung des Mistes eine für die Wirtschaft ökonomisch sehr wichtige Frage ist, so liegt doch der Vorteil und das Wesen des Heißmistverfahrens nach Krantz nicht auf dem Gebiete der Stickstoffkonservierung, sondern vielmehr in der Qualität der verrotteten organischen Substanz, insbesondere in der Bildung der kolloidalen Humusstoffe, worüber ich an anderer Stelle referieren will.

Zusammenfassung.

1. Im Hofmist finden die Nitrit- wie Nitratbildner außerordentlich günstige Bedingungen für ihre Entwicklung. Selbst nach wochenlanger Rotte finden sich in einer Tiefe von ca. 150 cm im Miststapel die Nitrifikationsbakterien, was ein Beweis dafür ist, daß sie die Fähigkeit besitzen, selbst die geringsten Mengen Sauerstoff an sich zu reißen. Ein Durchwehen des Miststapels, ein Durchspülen mit Regen oder auch verdünnter Jauche erleichtert ihnen die Existenz. Dagegen vermag ein Bretter- oder Mauerschutz, eine Lagerung in hohen Stapeln bei großer Masse oder der Zusatz eines heißen Pferdemistes die Existenzbedingungen der Nitrifikationsbakterien zu erschweren und dadurch die Stickstoffverluste einzuschränken.

Der Nitrobacter ist etwas empfindlicher als Nitrosomonas, weshalb er in tieferen Schichten, in denen der Nitrosomonas noch seine Existenzbedingungen findet, bereits zurückgedrängt wird.

2. Im Tiefstallmist wird die Entwicklung der Nitrifikationsbakterien im allgemeinen unterdrückt, infolge der Durchtränkung des Mistes mit Harn. Wichtig für die Stickstoffkonservierung ist ein genügender Besatz des Stalles mit Tieren. Welche Normen für eine gute Mistkonservierung in Betracht kommen, dafür fehlen noch die Beobachtungen. Es haben eine Reihe von Versuchen gezeigt, daß in Ställen, wo die Tiere lose umhergingen, die Konservierung sehr gut war. Die Nitrifikationsorganismen waren vollständig unterdrückt oder kamen nur in geringer Anzahl als Verunreinigung vor.

Wo die Tiere im Stalle angebunden stehen, da ist im hinteren Teile der Stände die Entwicklung der Nitrifikationsbakterien verhindert infolge der starken Durchtränkung mit Harn. Dagegen können sich im vorderen Teile der Stände, wo der Mist trockener ist, die Mikroorganismen der Nitrifikation gut entwickeln. Allerdings ist dort die Nitrifikation ziemlich unwesentlich, da ja dort wenig Material zur Nitrifikation vorhanden ist. Um jedoch eine gute Konservierung im Stalle zu erzielen, ist es nötig, daß der Abfluß der Jauche möglichst verhindert wird.

Für die Stickstoffkonservierung ist die Qualität der Streu wesentlich, nur reines, trockenes Stroh eignet sich gut. Mit Erde verunreinigtes Stroh, z. B. aus Kartoffelmieten, ebenso abgetrocknetes Kartoffelkraut erleichtert die Entwicklung der Nitrifikationsbakterien.

Im allgemeinen ist der Nitrosomonas mit Nitrobacter vergesellschaftet. Jedoch geht die Entwicklung des Nitrobacter schwieriger vor sich, so daß die Keimzahl im allgemeinen geringer ist als die des Nitrosomonas. Besonders wird der Nitrobacter in größeren Tiefen zurückgedrängt. (Im Einklang mit den Resultaten G. Ruschmanns.)

3. Stapel des heißen ammoniakreichen, leicht oxydierbaren Pferdemistes sind im allgemeinen frei von beiden Nitrifikationsbakterien.

4. In den Schafställen sind im allgemeinen die Existenzbedingungen der beiden Nitrifikationsorganismen gut. In diesem Mist geht also neben reicher Ammoniakentwicklung die freie Stickstoffentwicklung vor sich. Erst bei einer starken Besetzung des Stalles mit Tieren, etwa 1–2 Tiere auf 1 qm, wird die Nitrifikation unterdrückt. Der Grund der schwachen Wirkung der Harndurchtränkung auf die Nitrifikationskeime beruht auf der schwachen antiseptischen Wirkung des Schafharns.

5. Das Temperaturmaximum für die beiden Organismen, das bei 45 bzw. 55° angegeben wird, gilt nur für die Bedingungen der künstlichen Laboratoriumskulturen. Unter den natürlichen Existenzbedingungen im Stallmist können sich beide Organismen in viel höheren Temperaturen entwickeln, selbst 65° tötet sie nicht. Wahrscheinlich spielt dabei der Luftzutritt eine wesentliche Rolle.

6. Ein heißvergorener Stallmist, allerdings in verhältnismäßig niedrigen Stapeln zusammengelagert, hat sich ebenso reich an Nitrifikationsorganismen erwiesen wie der Kaltmist. Im Zusammenhang damit war auch die Stickstoffkonservierung in beiden Stapeln eine gleiche. Wiewohl die Stickstoffkonservierung des Mistes für die Wirtschaft eine ökonomisch wichtige Frage ist, so liegt doch der Vorteil und das Wesen des Heißmistverfahrens nach Krantz nicht auf dem Gebiete der Stickstoffkonservierung, sondern vielmehr in der Qualität der verrotteten organischen Substanz, insbesondere der Bildung der kolloidalen Humusstoffe, über deren Wirkung auf die Wurzelentwicklung bereits an anderer Stelle berichtet wurde.

Die vorliegenden Untersuchungen sind mit der Unterstützung des Ministeriums für Landwirtschaft der Republik Polen ausgeführt worden.

Literatur.

Buy, H. G., Über Wachstum und Phototropismus von Avena sativa. Amsterdam (de Bussy) 1933. — Cholodny, N., Beiträge zur Analyse der geotropischen Reaktion. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 65. 1926. S. 447.) — Gerlach, Die Kalt- oder Heißlagerung des Stalldüngers. (Ztschr. f. Pflanzenernährung, Düngung u. Bodenkunde. Bd. 8. 1929. S. 529.) — Gerlach und Seidel, Kalt- und Heißmist. (Ztschr. f. Pflanzenernährung, Dungung und Bodenkunde. Bd. 8. 1929. S. 15.) — Glathe, H., Die Heißvergärung des Stallmistes nach H. Krantz. (Die Landw. Versuchsstationen. Bd. 107. 1928. S. 65.) — Haberlandt, G., Wundhormone als Erreger von Zellteilungen. (Beitr. z. allg. Bot. Bd. 2. 1923. S. 1. [Bornträger].) — Vagn Hartelius, Über das Vorkommen von Wuchsstoff B. (Biochem. Ztschr. Bd. 261. 1933. S. 89.) The occurrence of growth substance B in urine. (Laboratoire Carlsberg Copenhague. 1933. No. 18.) — Kluczyński, W., Über die Bedingungen der Entwicklung der Nitrifikationsbakterien in verschiedenen Stallmistsorten. (l'Expérimentation agricole Varsovie. T. 8. 1932.) [Polnisch mit deutsch. Resumé.] — Kögl, F., and Hagen Smit, Proc. Acad. Amsterdam. Vol. 34. 1931. Über Auxine. (Angew. Chemie. Bd. 46. 1933. S. 469.) Chemie des Auxins und sein Vorkommen im Pflanzen- und Tierreich. (D. Naturwiss. Bd. 21. 1933. H. 2.) Zus. mit Smit, Haagen und Erxleben, Hanni, Über ein Phytohormon der Zellstreckung. (Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. 214. 1933. S. 241.) — Löhnis, F., Die Bedeutung der Bakterien im Stallmist und im Kompost. (Fortschr. d. Landwirtsch. 4. Jahrg. 1929. S. 65.) Untersuchungen über

Wirkung und Wert der Wirtschaftsdünger. (Fortschr. d. Landwirtsch. Nr. 37. 1928. S. 817.) — Marchiwicki, H., Zur Beurteilung des Heißmistverfahrens von H. Krantz. (l'Expérimentation agricole. T. 8. 1932. Varsovie.) [Polnisch mit deutsch. Zusammenfassung.] — Niels-Nielsen, Untersuchungen über einen neuen wachstumsregulierenden Stoff: Rhizopin. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 73. 1930. S. 125.) — Niels-Nielsen and Hartelius, Vagn, Investigations of the growth of Aspergillus niger at different hydrogen ion concentrations with and without the addition of growth promoting substance B. (Laboratoire Carlsberg Copenhague. 1933. Nr. 15.) Untersuchungen über die Wirkung einiger Metalle als „Co"-Wuchsstoffe. (Biochem. Ztschr. Bd. 259. 1933. S. 340.) — Niklewski, B., Über die Bedingungen der Nitrifikation im Stallmist. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 26. 1910. S. 388.) Influence des bactéries nitrifiantes sur la matière azotique contenue dans le fumier. (Roczniki Nauk Roln. T. 9. 1923. p. 193.) [Polnisch.] Zur Biologie der Stallmistkonservierung. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 75. 1928. S. 206.) Über den Einfluß von Kolloidstoffen auf die Entwicklung einiger Kulturpflanzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 78. 1933. S. 431.) Influence des matières colloidales du fumier sur le développement des racines des plantes. (l'Expérimentation agricole Varsovie. T. 7. 1931.) Influence des éléments colloidaux sur la production végétale. (Ann. agron. Paris. 1931.) — Niklewski, B., zus. mit Krause, A., Über den Einfluß von Kolloidsubstanzen auf die Entwicklung des Wurzelsystems der Pflanze. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 70. 1929. S. 158.) — Paál, A., Über phototropische Reizleitung. (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 58. 1919. S. 406.) — Ruschmann, G., Vergleichende biologische und chemische Untersuchungen an Stalldüngersorten. III. Mitt. (Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 73. 1928. S. 179.) Natürlicher und künstlicher Stalldünger. Jauche und Gülle. (In Handb. d. Pflanzenernähr. u. Düngerlehre. Honcamp. 1931. Bd. 11. S. 162.) — Söding, H., Wachstum und Wanddehnbarkeit bei der Haferkoleoptile. (Jahrb. f. Wiss. Bot. Bd. 74. 1931. S. 127.) — Went, F. W., Lehrb. d. Pflanzenphysiologie Kostytschew und Went. Bd. 2. 1931.

Nachdruck verboten.

Studien über Flockenbildung (Agglutination) der Hefe.

II. Mitteilung.

[Aus dem wissenschaftlichen Forschungs- und Betriebslaboratorium der I. Staats-Hefenfabrik in Moskau.]

Von **A. Malkow.**

Aus unserer ersten Veröffentlichung[1]) folgt, daß die Frage über Agglutination der Hefe rein physikalisch-chemisch nicht zu lösen ist. Das gefundene p_H (2,85 –3,15) - Optimum für Flockenbildung der Hefe hat keinen biologischen Wert, weil der p_H der optimalen Gärung bei p_H 4,5—5,5 liegt.

Es war auch gezeigt worden, daß die Preßhefe der dritten Generation besser agglutiniert, als die Hefe der zweiten Generation. Die Ergebnisse der oben erwähnten Mitteilung gelten nur, wenn die Hefe nicht gärt. Im folgenden haben wir versucht, die Frage über Agglutination der Hefe durch Versuchsgärungen im Laboratorium und durch geänderte Betriebsbedingungen noch einmal zu beleuchten.

Methodik.

In dieser Arbeit wurden bestimmt:

1. p_H potentiometrisch;
2. Formol-Stickstoff nach Sörensen;

[1]) Malkow, A., Petina, A., und Zwetkowa, N., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 193.

3. Alkohol: gravimetrisch;
4. Hefemenge: durch Filtrieren der vergorenen Flüssigkeit durch gewogene Filter und Trocknen derselben mit der Hefe bis zur Gewichtskonstanz;
5. Triebkraft der Hefe: nach der Methode des Verbandes der Deutschen Preßhefefabrikanten;
6. Gärkraft der Hefe: in Einhorns Reagenzröhrchen.

Experimenteller Teil.

A. Studien über Agglutination der Hefe in Gärbottich.

Versuch Nr. 1.

Tabelle 1. Auf 100 ccm Flüssigkeit berechnet.

Nr.	Stunden der Gärung	PH	Formol-Stickstoff in mg	Agglutination der Hefe	Gärkraft der Hefe in Min.
1	5	4,32	0,00	—	—
2	6	4,96	0,00	+	60
3	7	4,85	0,00	+ +	—
4	8	5,02	0,00	+ +	—
5	9	4,75	0,00	+ +	—
6	10	4,15	0,80	+ +	—
7	11	4,25	0,80	+ +	—
8	12	4,32	0,80	+	720
9	13	4,40	0,80	—	—
10	14	4,45	0,80	—	960

Die Beobachtung über die Gärung unter Betriebsbedingungen in verschiedenen Zeitabschnitten zeigt, daß die Agglutination der Hefe mit der enzymatischen Aktivität derselben verknüpft ist. Die Hefe assimiliert den Stickstoff der Nährlösung um so schlechter, je besser sie agglutiniert. Die Gärkraft der flockigen Hefe war auch ganz schlecht und steht in Zusammenhang mit der Agglutination derselben.

Versuch Nr. 2.

Tabelle 2. Auf 100 ccm Flüssigkeit berechnet.

Nr.	Stunden der Gärung	PH	Formol-Stickstoff in mg	Agglutination der Hefe	Gärkraft der Hefe in Min.
1	12	4,70	0,39	+	48
2	13	4,85	0,42	+	42
3	14	4,60	0,42	+ + +	32
4	15	4,75	0,35	+ + + +	65
5	16	4,97	0,49	+ + + +	96
6	17	5,25	0,56	+ + + + +	102
7	18	5,35	0,56	+ + + + + +	—

Die weiteren Analysen der Betriebsgärung bestätigen den oben erwähnten Zusammenhang zwischen Agglutination der Hefe und ihrer enzymatischen Aktivität.

aus der Melasse durch Bleiacetat-Behandlung begünstigt die Gärungsergebnisse.

Ferner interessierte uns die Frage nach der Rolle der bei Hefe- und Bakteriengärung entstandenen Stoffe bei der Flockenbildung der Hefe. Zur Klärung dieser Frage wurde folgender Versuch angestellt.

Versuch Nr. 7.

Es wurde eine Nährlösung von 1,5 L. nicht vergorener und 1,5 L. vergorener Melassemaische bereitet. Die Nährlösung wurde sterilisiert. Die Gärung geht durch zwei Stadien. Die bei der 24-stünd. ersten Gärung entstandene Hefe diente als Saat für die zweite Gärung. Die Kontroll-Gärung wurde in reiner Melassemaische durchgeführt.

Tabelle 8.

Nr.	Bestandteile der Maische	Stadien der Gärung	Vergorene Maische in %	Agglutination der Hefe	Triebkraft der Hefe in Min.
1	Vergorene Maische	I	65,06	+	92
2	,, ,,	II	—	+ + + + +	89
3	Reine Melassemaische	I	66,26	+	62
4	,, ,,	II	—	+ + +	82

Aus den in Tabelle 8 angegebenen Werten geht hervor, daß die Hefen, die in einer Nährlösung aus vergorener Maische kultiviert waren, niedrigere Gärungs- und höhere Agglutinations-Werte zeigen, als die Hefen, die in reiner Melassenmaische gezüchtet waren.

Versuch Nr. 8.

1 L. durch wilde Milchsäurebakterien vergorene Melassemaische wurde filtriert, sterilisiert und mit reiner Melassemaische gemischt. Die Kontroll-Gärung erfolgte in nicht angegorener Melassemaische.

Tabelle 9.

Nr.	Maische	Stadien der Gärung	Vergorene Maische in %	Entstandene nach d. vergorenen Extrakt Hefe in %	Agglutination der Hefe
1	Melassemaische	I	67,07	29,09	+ +
2	,,	II	68,29	33,39	+ +
3	,,	III	59,75	—	+ + +
4	Melassemaische +	I	61,17	25,39	+ +
5	durch Milchsäurebak-	II	60,00	24,50	+ + + +
6	terien vergor. Maische	III	50,00	20,00	+ + + +

Aus dem Versuch Nr. 8 läßt sich schließen, daß der Zusatz von durch wilde Milchsäurebakterien vergorener Melassemaische die Gärungsaktivität und Vermehrung der Hefe senkt und die Flockenbildung erhöht.

Schlußfolgerung.

Überblicken wir die von uns erhaltenen Resultate über Agglutination der Hefe, so können wir bestätigen, daß die Flockenbildung vom physiologischen Zustand der Hefe abhängig ist. Wie die oben angeführten Versuche zeigen, kann die Flockenbildung der Hefe gesteigert werden durch Änderung der Nährlösung.

Wir sehen hier in drei Fällen eine Zunahme der Flockenbildung der Hefe. Im ersten Fall ist festzustellen, daß die Hefen, die in Melassemaische kultiviert waren entsprechend der Gärungsdauer agglutinieren und degenerieren. Im zweiten und dritten Fall zeigt sich, daß die Flockenbildung der Hefe auch durch eigene Stoffwechselprodukte sowie die von Milchsäurebakterien gefördert werden kann. Diese letztere Feststellung ist eine Bestätigung der Beobachtungen früherer Forscher[1]), daß Hefe durch Mitwirkung sog. „Flockenmilchsäurebakterien" flockt. Das beruht aber nicht (Vers. Nr. 8) auf der vorklebenden Wirkung der Bakterienkörper, sondern auf der Verschlechterung der Nährlösung durch die bakteriellen Stoffwechselprodukte.

Zusammenfassung.

Aus unseren Versuchen ergibt sich:

1. Die Flockenbildung der gärenden Hefe steht im Zusammenhang
   a) mit der schwachen enzymatischen Aktivität,
   b) mit schlechter Vermehrung,
   c) mit der Verringerung der Gärfähigkeit.
2. Die Ursache der physiologischen Agglutination der Hefe liegt in der schlechteren Beschaffenheit der Nährlösung.
3. Die längere Gärung auf Melassemaische fördert die Hefeagglutination.
4. Melassemaische, die Stoffwechselprodukte der Hefe enthält, beeinflußt die Flockenbildung.
5. Die Gegenwart von Stoffwechselprodukten der „Flockenmilchsäurebakterien" beschleunigt die Flockenbildung der Hefe.

[1]) Hennoberg, W., Handb. d. Gärungsbakt., II. Aufl. Bd. I, 13. S. 163, 398.

Nachdruck verboten.

Die Bedeutung der Hefeverteilung im Nährmedium für den Gärungsverlauf.

[Aus dem Institut für allgemeine Botanik und Pflanzenphysiologie, Universität Cluj (Klausenburg).]

Von **Erwin Reimesch.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Gelegentlich der Vorarbeiten zur Schaffung eines neuen Gärungssaccharometers fielen mir in der diesbezüglichen Literatur die Mannigfaltigkeit der Widersprüche und die Unterschiede in den Ergebnissen über Gärintensität und Gärungsverlauf besonders auf. Noch auffälliger ist aber die Verschiedenartigkeit der Erklärungsversuche zu diesen Ergebnisdifferenzen. Neben recht einleuchtenden, auf physikalisch-chemischer Grundlage aufgebauten Erklärungen finden sich auch recht zweifelhafte hypothetische Begründungen mit rein biologischer Ursachenannahme.

Wenn Cardot und Richet (1), die bei ihren Milchsäurebakterienversuchen festgestellten Unregelmäßigkeiten in verschiedenen Proben, nicht auf physikalische oder chemische Ursachen zurückführen, sondern mit Individualitätsunterschieden der einzelnen Zellen erklären, so ist dieses für Versuche mit antiseptischen Beigaben sicher richtig, denn gerade unter solchen anormal ungünstigen Lebensbedingungen werden Individualitätsunterschiede ganz besonders unregelmäßig in Erscheinung treten und können recht leicht zu Ergebnisunterschieden in den Einzelproben eines Serienversuches führen. Bei Serienversuchen mit normalen Nährmedien und vollkommen gleichen Proben, sowohl was die Quantität als auch die Qualität der verwendeten Mikroorganismen-Aussaat anbetrifft, ist diese Erklärung der Unregelmäßigkeit in den Einzelergebnissen jedoch haltlos. Es ist unmöglich anzunehmen, daß bei Versuchen mit einer Aussaat, deren Zellenzahl in die Milliarden geht, sich die individuell gleichen Zellen immer in einer Versuchseprouvette zusammenfinden und dadurch im Serienversuch die bekannten Unregelmäßigkeiten im Ergebnis der Einzelproben bedingen. Weit mehr ist anzunehmen, daß selbst bei effektiven Individualitätsunterschieden der Zellen diese sich auf alle Proben des Serienversuches regelmäßig und im gleichen Verhältnis verteilen und hier die Ergebnisse der Einzelproben wohl beeinflussen, jedoch gleichmäßig beeinflussen. Um die Richtigkeit dieser Annahme nachzuweisen, stellte ich mehrere Serienversuche an, wobei bunt zusammengesetzte Hefeaufschwemmungen verwendet wurden. Die Verschiedenartigkeit der Zusammensetzung bezog sich sowohl auf Rasse als auch auf Entwicklungsstadium der verwendeten Kulturen. Diese heterogenen Hefeaufschwemmungen aus einem Gemisch von mehr und weniger gärkräftigen Zellen dienten, nach vorhergehendem entsprechenden Schütteln und mehrmaligem Filtrieren durch lockere Watte, wobei jede Fremdinfektion vermieden wurde, zum Beschicken einer Serie von 12 Gäreprouvetten mit je 5 ccm Glukosenährlösung. Sowohl was die Gärintensität als auch den Gärungsverlauf anbetrifft, erhielt ich durchweg einwandfreie Ergebnisse in den Einzelproben, deren Unterschiede durchaus in den Rahmen der Fehlergrenze der Arbeitsmethode fielen. Damit ist erwiesen, daß bei noch so

heterogenen Hefeaufschwemmungen eine gleichmäßige Verteilung der heterogenen Elemente auf sämtliche Proben eines Serienversuches stattfindet, was übrigens auch durch die Wahrscheinlichkeitsrechnung zutrifft. Anders liegen die Verhältnisse, wenn die Einzelproben eines Serienversuchs mit je einer einzigen Zelle einer Mikroorganismenkultur beimpft werden oder mit gesonderten Aufschwemmungen von Kulturen, die sich aus einer einzigen Zelle entwickelten. Wohl haben wir es in diesem Falle mit Reinkulturen im wahrsten Sinne des Wortes zu tun, doch muß hier mit Individualitätsunterschieden der einzelnen Zellen trotz morphologisch gleicher Beschaffenheit derselben gerechnet werden. Unterschiede im Versuchsergebnis der mit solchen Reinkulturen beschickten Einzelproben sind daher verständlich.

In dieser Arbeit will ich auf einige Ursachen hinweisen, die im Prinzip durch Änderung der Hefeverteilung im Nährmedium den Gärungsverlauf beeinflussen und dadurch Ergebnisunterschiede in den Einzelproben eines Serienversuches bedingen können. Es ist erstaunlich, wie selbst in gärphysiologischen Arbeiten, die den Anspruch auf Genauigkeit erheben, diese Ursachen entweder gar nicht oder nur sehr mangelhaft beachtet wurden, trotzdem ihre Nichtbeachtung oft ganz grobe Fehler für den Versuch nach sich zieht. Diese Fehler fälschen nicht das Endergebnis des Versuches in einer konstanten Art, was durch einen errechenbaren Fehlerfaktor behoben werden könnte, sondern greifen während der ganzen Versuchsdauer in unregelmäßiger Weise ein und machen dadurch ihr mathematisches Einbeziehen unmöglich. Die Unregelmäßigkeit in der Fehlererscheinung hängt mit der wechselseitigen Funktion des Fehlergrundes mit sämtlichen übrigen physikalischen Faktoren, die den Versuchsvorgang beeinflussen, zusammen. So z. B. kommt der kleinere Durchmesser einer Gäreprouvette nicht nur in der kleineren Sedimentierfläche für die Hefezellen zum Ausdruck, was allein schon Anlaß zu Ergebnisunterschieden gegenüber sonst gleichen Proben, die jedoch in Eprouvetten mit etwas größerem Durchmesser untergebracht sind, geben würde, sondern der Durchmesserunterschied bedingt weiter als Fehlergrund in dieser Probe eine dickere Schichtung des Hefesedimentes, eine Verlangsamung der Sedimentierung infolge höherer Flüssigkeitssäule usf., Ursachen, die für den Gärungsverlauf von großer Bedeutung sind.

Soweit es mir möglich war, habe ich versucht, die Zusammenhänge zwischen Hefeverteilung und Gärungsverlauf experimentell zum Ausdruck zu bringen, um die diesbezüglichen Ergebnisse dann zum Nachweis der Wichtigkeit verschiedener, wenig berücksichtigter, physikalischer Ursachen als Fehlerquellen in Gärversuchen zu verwenden.

Die Bedeutung der effektiven Hefeverteilung im Nährmedium hat folgerichtig Carlson (2) erkannt und ihr in seinen Gärversuchen Rechnung zu tragen gewußt. Seine Versuchsanordnung, die Hefezellen in allen Versuchsproben in einer möglichst gleichförmigen Verteilung — in Suspension — zu halten, kann mustergültig genannt werden. Für die Gärintensität und den Gärungsverlauf ist die Suspension der Hefezellen im Nährmedium unbedingt die optimalste Verteilungsbedingung, wenn sie auch nicht eben die natürlichste ist. Daß dieses ganz besonders bei untergärigen Hefen zutrifft, ist aus dem Sedimentierbestreben dieser Hefen schon ersichtlich. Ich konnte beobachten, daß bei noch so intensivem Gärungsverlauf und bei den gärkräftigsten untergärigen Hefen nur

ein geringer Teil der Hefe sich nach einer bestimmten Zeit noch in Suspension befand und auch diese Zellen nur durch das Aufsteigen der Kohlensäurebläschen mitgerissen bzw. aufgewirbelt wurden. Ich finde es für vorteilhafter und natürlicher, in Gärversuchen die Hefe sich ganz selbst zu überlassen, wobei ich bemerken muß, daß die Carlsonsche Propeller-Umrührmethode den meisten anderen Umrühr- und Schüttelmethoden auch insoweit überlegen ist, als eine ungleichmäßige Sauerstoffzumischung in den einzelnen Proben ausgeschlossen ist, wodurch eine evtl. Störung der Gärungsgleichung in den Einzelproben durch ungleichmäßige Verfettung der Hefe (3) ebenfalls unmöglich ist.

Welche Überlegenheit Versuchsproben mit suspendierter Hefeaussaat gegenüber solchen mit sedimentierten Zellen in bezug auf Gärintensität besitzen, konnte ich folgendermaßen zeigen. Es wurden mehrmals Serienversuche von je 12 Gärproben angesetzt. In jeder Versuchsserie wurden immer 6 Proben 5 Min. hindurch bei einer Tourenzahl von 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, wodurch eine fast quantitative Sedimentierung der suspendierten Hefeaussaat bewirkt wurde. Mikroskopisch wurde mit Hilfe des Blutkörperchen-Zählapparats (4) nachgewiesen, daß sich weniger als 1% der zugesetzten Hefemenge in den zentrifugierten Gärproben noch in Suspension befanden. Anschließend daran wurde nun die Gärungsverlaufkurve sämtlicher zentrifugierten und nichtzentrifugierten Proben festgestellt. Die anfängliche Gärintensitätssteigerung in den zentrifugierten Proben trotz sedimentierten Zellen, ist nur eine scheinbare und läßt sich darauf zurückführen, daß es infolge der Zellenanreicherung zur Bildung von Kohlensäureblasen kommt, bevor eine Sättigung der Nährlösung mit Kohlensäure eingetreten ist und diese relativ großen Blasen auf dem kurzen Weg, den sie bei ihrem Aufsteigen in der Nährlösung zurückzulegen haben, nur unvollständig absorbiert werden. Die etwas später, nach Sättigung der Nährlösung in sämtlichen Proben mit Kohlensäure in den nicht zentrifugierten Proben einsetzende und ständig zunehmende Gärintensität und der große Unterschied gegenüber der Gärintensität in den zentrifugierten Proben ist maßgebend und betrug im Höchstfalle 37,4%. Der langsam einsetzende Differenzausgleich zwischen der Gärungskurve der zentrifugierten und nichtzentrifugierten Proben erklärt sich aus der ständig fortschreitenden Sedimentierung der Hefezellen in den nichtzentrifugierten Proben. Ein späteres Heranziehen der verschiedenen Gärkurven zu Vergleichszwecken ist nicht ratsam, da Intensitätsunterschiede in der Gärung auch durch die nunmehrige Ungleichheit der Zucker- und Alkoholkonzentration in der Nährlösung bedingt sein können.

Daß es sich bei den zentrifugierten Proben nicht etwa um eine Schädigung der Hefezellen durch Zentrifugieren handelt, beweist der Umstand, daß Proben, die 1 Std. hindurch bei 2500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert wurden, nach entsprechendem Aufschütteln des Hefesedimentes, sich in nichts von der Gärintensität und Gärkraft gleicher nichtzentrifugierten Proben unterschieden.

Um den Nachweis zu erbringen, von welchem Einfluß die Hefeverteilung im Nährmedium auch in anderen Phasen des Gärungsverlaufes auf die Gärintensität ist, wurden bei anderen Serienversuchen zu je 12 Proben in 6 Gäreprouvetten — bei jeder Serie in einem anderen Zeitabstand — das Hefesediment durch kurzes und kräftiges Schütteln wieder in Suspension gebracht und der Gärungsverlauf dann in den 12 Proben der Serie nach kurzer

Unterbrechung weiter verfolgt. Es sei bemerkt, daß das Schütteln in einer sauerstofffreien Kohlensäure-Atmosphäre vorgenommen wurde, um ungleichmäßige Zumischungen von Sauerstoff in den einzelnen Gärproben zu vermeiden. Auch in diesen Versuchen konnten Intensitätsunterschiede in der Gärung zwischen den aufgeschüttelten und nichtaufgeschüttelten Proben, je nachdem die Aufschüttelung des Hefesedimentes in einer früheren oder späteren Phase des Gärungsverlaufes vorgenommen wurde, von 0—28,7% festgestellt werden. Je später die Aufschüttelung vorgenommen wurde, d. h. je weiter die Sedimentierung der Hefezellen fortgeschritten war, um so größer war auch die Prozentualität des Intensitätsunterschiedes zwischen aufgeschüttelten und nichtaufgeschüttelten Proben. In Versuchen mit geringer Hefeaussaat konnte ein relativ viel kleinerer Unterschied in der Gärintensität der zentrifugierten und nichtzentrifugierten bzw. aufgeschüttelten und nichtaufgeschüttelten Proben festgestellt werden, gegenüber Versuchsanstellungen mit konzentrierteren Hefeaufschwemmungen. Diese geringeren Unterschiede lassen sich dadurch erklären, daß geringe Hefemengen nach der Sedimentierung auf dem Eprouvettengrund eine verhältnismäßig dünne Schicht bilden und die Hefezellen dadurch, wenn auch nicht gerade unter optimalen, so doch noch unter recht günstigen gärphysiologischen Bedingungen stehen. Es kommt hier demnach trotz Sedimentierung mehr oder weniger noch die Gesamtmasse bzw. die Gesamtreaktionsoberfläche der Hefezellen bei der Gärfunktion zum Ausdruck. Bei Verwendung größerer Hefemassen liegen in dieser Beziehung, infolge dickerer Schichtung des Hefesedimentes die Verhältnisse viel ungünstiger, was sich dann auch in einem verhältnismäßig größeren Unterschied in den entsprechenden Versuchsergebnissen zu erkennen gibt. Wenn demnach in einer Gärprobe bei Anwendung z. B. der doppelten Hefemenge gegenüber einer Probe mit nur halb so großem Hefezusatz, bei sonst genauester Wahrung der Gleichheit sämtlicher den Gärungsverlauf beeinflussenden Faktoren in beiden Proben, nicht die doppelte Kohlensäuremenge in der Zeiteinheit resultiert, so ist das nicht verwunderlich, sondern das Minderergebnis erklärt sich aus der hemmenden Beeinflussung der Gärintensität durch die dickere Schichtung des Hefesedimentes. Zur Beweisführung dieser Annahme und zur Erklärung dieser beobachteten Erscheinung wurden weitere Serienversuche zu je 12 Proben angestellt. In den ersten Serien wurde die Hefeaussaat so klein bemessen, daß die Gärungsverlaufkurve der 6 zentrifugierten Proben, mit der der 6 nichtzentrifugierten Proben fast zusammenfiel. In diesen Proben waren demnach die sedimentierten Hefezellen derartig dünn gelagert, daß eine wesentliche Beeinträchtigung der Gärintensität durch zu dicke Überschichtung noch nicht eingetreten war und somit die Gesamtgärkraft der Hefezellen fast im Ausmaß der suspendierten Zellen der nichtzentrifugierten Proben zum Ausdruck kommen konnte. In anderen Versuchsserien, wobei alle 12 Proben zentrifugiert wurden, wurde die Hefeaussaat nun ständig vergrößert, was natürlich keine proportionale Zunahme der Kohlensäureentwicklung in der Zeiteinheit zur Folge hatte. Die Steigerung der Hefeaussaat wurde solange fortgesetzt, bis neue Hefezugaben keine oder nur noch eine unwesentliche Zunahme der Gärintensität bewirkten. Durch Subtrahieren der den einzelnen Hefezugaben entsprechenden Zunahmen in der Gärintensität, können die effektiven Leistungswerte der verschiedenen Zellagen im Hefesediment berechnet werden. Die Ergebnisse führen die Bedeutung der Schichtungsverhältnisse

im Hefesediment für den Gärungsverlauf deutlich vor Augen und zeigen, daß die Gärintensität nicht direkt proportional mit der Steigerung des Hefezusatzes zunimmt, sondern in Form einer aufsteigenden Kurve, deren oberer Zweig asymptotische Tendenz zeigt (siehe Abb. 1), infolge der mit der Hefesteigerung im Hefesediment immer ungünstiger werdenden Lagerungsverhältnisse. Von welcher Tragweite diese Intensitätsverminderung nicht nur für gärphysiologische, sondern für alle physiologischen Versuche ist, in denen mit verschiedenen Quanten von Mikroorganismen gearbeitet und deren Ergebnisse zu Vergleichszwecken verwendet werden, ist leicht ersichtlich.

Inwiefern technische Mängel bei gärphysiologischen Versuchsanordnungen die Hefeverteilung im Nährmedium beeinflussen, sollen folgende Versuche zeigen. In mehreren Serienversuchen zu je 12 Proben wurden 6 Gäreprouvetten serienweise verschiedene Neigungen gegeben, mit Abweichungen von 1—45° von der Senkrechten, während die übrigen 6 Proben genau senkrecht gelagert blieben. Die Versuchsergebnisse zeigten, daß nach erfolgter Sedimentierung die Gärintensität der geneigten Proben bis zu 21% die der nichtgeneigten Proben überstieg. Ganz besonders groß waren verhältnismäßig die Intensitätsunterschiede bei kleinen Abweichungen von der Senkrechten. Die Intensitätssteigerung nahm nicht im direkten Verhältnis mit dem Neigungsgrad zu, sondern verlief in Form einer aufsteigenden Kurve (siehe Abb. 2). Die erforderlichen Neigungen der Gäreprouvetten wurden durch ein bewegliches, genau fixierbares Metallstativ erzielt, das an Stelle des normalen unbeweglichen Stativs in den Gärungssaccharometer eingesetzt wurde. Die Intensitätszunahme in den geneigten Proben ist insoweit erklärlich, als durch die Neigung der Gäreprouvetten eine Vergrößerung der Sedimentierfläche für die Hefezellen eintrat, wodurch günstigere Lagerungsverhältnisse im Hefesediment geschaffen wurden, um so mehr gleichzeitig mit der Verteilung der Hefezellen auf eine größere Sedimentierfläche auch eine Entlastung in der Überschichtung der tiefer gelegenen Zellagen eintritt, welche Entlastung ganz besonders bei einer größeren Hefeaussaat deutlich zum Ausdruck kommt. Daß die Intensitätsunterschiede ganz besonders bei den ersten Neigungsgraden so groß sind, liegt daran, daß gerade diese kleinen ersten Neigungen bei der Vergrößerung der Sedimentierfläche verhältnismäßig am stärksten zur Geltung kommen. Darin liegt auch die große Gefahr der Nichtbeachtung einer vollkommen senkrechten Lagerung der Gäreprouvetten in gärphysiologischen Versuchen, denn gerade diesen kleinen Neigungen wird wenig Beachtung geschenkt und gerade diese bedingen grobe Fehler für das Versuchsergebnis.

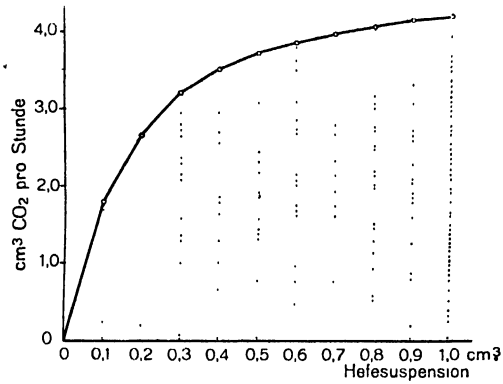


Abb. 1.
Gärintensität als Funktion der Hefemenge.

Eine andere Ursache, die für die Lagerungsverhältnisse der sedimentierten Hefezellen von Belang ist und dadurch eine Steigerung bzw. eine Herabsetzung der Gärintensität nach sich ziehen kann, ist auch in der Form der Gäreprouvette gegeben. Experimentell konnte ich nachweisen, daß gleiche Versuchsproben in Gäreprouvetten mit sichtlichen Unterschieden in ihrer Form, in ihrer Gärintensität merkliche Unterschiede zeigten. So z. B. kommt der größere Durchmesser einer Gäreprouvette gegenüber anderen Eprouvetten mit kleinerem Durchmesser in erster Linie in einer Vergrößerung der Sedimentierfläche für die Hefezellen zum Ausdruck, wodurch günstigere Lagerungsverhältnisse im Hefesediment dieser Probe gegeben sind. Ähnlich günstig wirkt auf die Vergrößerung der Sedimentierfläche das konische Zulaufen einer Gäreprouvette gegenüber stumpfer zulaufenden Eprouvetten, sowie ein unebener Eprouvettengrund. Bei Verwendung von Gäreprouvetten mit auffälligen, leicht erkennbaren Formunterschieden konnte ich Intensitätsunterschiede zwischen den jeweiligen Gärproben bis zu 6,7%, bei schwerer erkennbaren Formunterschieden bis zu 4,2% beobachten. Um diesbezügliche Fehlerquellen in Versuchen auszuschalten, muß demnach — insbesondere bei vergleichenden Untersuchungen — auch auf genaueste Übereinstimmung der Form, der zur Verwendung kommenden Gäreprouvetten geachtet werden. Diese Forderung muß vor allem bei Gärversuchen mit geringer Hefeaussaat berücksichtigt werden, bei Verwendung größerer Hefemengen ist die Form des Eprouvettengrundes für die an und für sich in ihrer Gärintensität durch Überschichtung schon schwer behinderten untersten Zellagen von weniger Belang.

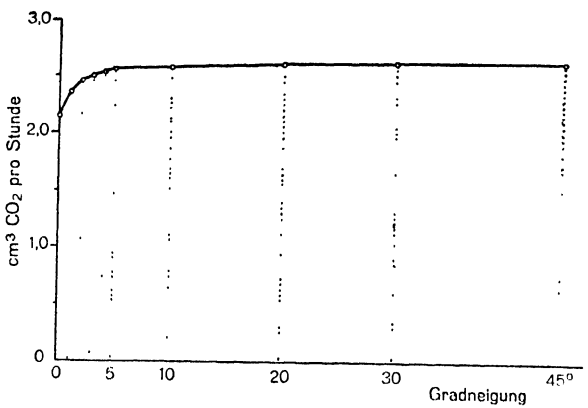


Abb. 2. Gärintensität als Funktion der Neigung.

Zur weiteren Ermittlung der Bedeutung der Verteilungsverhältnisse von Hefezellen im Nährmedium auf Gärintensität und Gärungsverlauf diente auch folgender Versuch. In mehreren Serienversuchen zu je 12 Proben wurde die Sedimentierfläche in 6 Gäreprouvetten durch vorherige Beigabe von Glasperlen mit 1 mm Durchmesser vergrößert. Die Anzahl der beigegebenen Glasperlen wurde bei jeder Serie um 3 Perlen vermehrt, was eine Steigerung der Gärintensität durch günstigere Verteilungsverhältnisse der Hefezellen im Nährmedium zur Folge hatte. So wurde bei Zugabe von einer Glasperle bereits eine Intensitätssteigerung von 3,2% beobachtet, bei 25 Glasperlen bereits eine von 28,3%. Daß nur die günstigeren Verteilungsverhältnisse im Hefesediment die Ursache dieser Unterschiede sein können, geht daraus hervor, daß zu Anfang der Gärungsverlauf in den Proben mit Perlen mit dem der Proben ohne Perlen fast übereinstimmte und die Intensitätsunterschiede sich nur allmählich, doch ständig zunehmend, erst mit dem Eintritt der Hefesedimentierung einstellten, d. h. nachdem die gün-

stigeren Verteilungsverhältnisse überhaupt erst zum Ausdruck kommen konnten. Diese Anfangsphase der Unterschiedslosigkeit konnte durch kurzes Zentrifugieren der Proben ausgeschaltet werden. In diesem Falle traten die günstigeren Verteilungsverhältnisse in den Proben mit Glasperlen sofort in Erscheinung, wodurch auch die Intensitätssteigerung in der Gärung sich gleich zu Beginn des Gärungsverlaufes bemerkbar machen konnte. Nahezu ideale Verteilungsverhältnisse im Nährmedium erzielte ich für die Hefezellen durch Einlegen von Glaswatte-Bäuschen in die Gäreprouvetten, wodurch die Sedimentierfläche ganz außerordentlich vergrößert wurde. Die Gärintensität solcherart behandelter Proben mit — man könnte sagen „permanentisierten Hefesuspensionen" blieb nur wenig hinter der Gärintensität von Proben mit normalen Hefesuspensionen zurück, überstieg diese aber nach eingetretener Sedimentierung der Hefezellen um 29,7% im Höchstfalle. Eine genaue Übereinstimmung in der Prozentualität der Gärintensitätssteigerung der mit Wattebäuschen versehenen Proben konnte nicht erzielt werden infolge der Unmöglichkeit, durch die beigegebene Watte in den verschiedenen Proben immer die gleichen Verteilungsverhältnisse zu schaffen. Um deren Gleichheit wenigstens halbwegs zu sichern, wurde auf gleiches Gewicht und möglichst gleiche Lockerung der Wattebäuschchen geachtet. Die Unterschiede im Ergebnis der einzelnen Proben bewegten sich zwischen 0—3,3%. Diese Versuchsergebnisse lassen deutlich erkennen, daß feste Verunreinigungen im Nährmedium, wie Wattefäden, Gummifragmente und vor allem die in Bierwürze so oft auftretenden Ausflockungen, die Gärintensität beeinflussen und demnach als Fehlerquellen gewertet werden müssen.

Große Bedeutung in bezug auf Gärungsverlauf kommt auch dem Aussehen der verwendeten Hefekulturen zu. In mehreren Serienversuchen zu je 12 Proben, die mit gleichen Quantitäten einer gemeinsamen Hefeaufschwemmung beschickt waren, wurde den einzelnen Proben nach 6 Tagen gleiche Quanten neuer Glukosenährlösung zugegeben und dann durch verschieden langes Schütteln in einer Kohlensäureatmosphäre das zusammengeballte Hefesediment in verschiedenen Feinheitsgraden wieder in Suspension gebracht. Mikroskopisch stellte ich fest, daß die am längsten geschüttelten Proben Gruppen von höchstens 5 Zellen in ihrer Hefesuspension enthielten und die am kürzesten geschüttelten auch solche von über 100 Zellen. Die in den am längsten geschüttelten Proben beobachtete Gärintensität überstieg die der weniger lang geschüttelten Proben je nach Dauer des Schüttelns von 0—11,9%. Als Hauptursache dieser Intensitätssteigerung durch Schütteln kommt neben Vergrößerung der Reaktionsfläche des Hefesedimentes infolge Auflockerung und Zerteilung der Hefeklumpen auch das längere Verweilen der kleineren Zellgruppen in Suspension gegenüber den größeren sich rascher sedimentierenden Gruppen in Frage. In den weniger geschüttelten Proben trat die Behinderung der Gärintensität durch Überschichtung demnach auch rascher ein als in den länger geschüttelten Proben, in denen folglich der ideale Verteilungszustand — die Suspension der Hefezellen im Nährmedium — länger anhielt.

In sämtlichen Versuchen dieser Arbeit wurde zur Bestimmung der Gärintensität, auf Grund der in der Zeiteinheit entwickelten Kohlensäure, der eigene Gärungssaccharometer (6) benutzt, der infolge seiner Fähigkeit Serienbestimmungen rasch durchzuführen sowie seiner geringen Fehlergrenze zum Nachweis geringer Gärintensitätsunterschiede allein in Betracht kam. Als

Hefematerial kamen frische gärkräftige Kulturen von Saccharomyces cerevisiae, untergärig, Typus „K" der Münchener Brauerei- und Versuchsanstalt und als Nährlösung eine 5proz. Glukoselösung (5 g Glukose „Merck" auf 100 ccm zehnfach verdünnte Beneckе-Nährlösung) zur Anwendung. In allen Versuchen wurde unter dem Gesichtspunkt der Reinkultur gearbeitet und bei allen Manipulationen eine Fremdinfektion vermieden.

Zum Schlusse danke ich Herrn Prof. Dr. J. Grintzesco für die Förderung dieser Arbeit.

Schlußfolgerung.

Die Versuchsergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß neben Faktoren wie Zuckerkonzentration und Hefemenge (5) die Gärintensität und dadurch auch der Gärungsverlauf auch vom bedeutungslos scheinenden Faktor der effektiven Hefeverteilung im Nährmedium merklich beeinflußt wird. Wenn bei Gleichheit aller übrigen Faktoren, durch die der Gärungsverlauf beeinflußt wird, in gleichen Proben sich Unterschiede im Versuchsergebnis der Einzelproben zeigen, so kann auf eine Ungleichheit der Verteilungsverhältnisse der Hefe im Nährmedium in den Einzelproben durch in dieser Arbeit angeführte oder andere Gründe geschlossen werden. Gleichzeitig ergibt sich aus obigen Versuchen, daß bei gär-physiologischen Untersuchungen auf vollkommene Gleichheit nicht nur der verwendeten Hefekulturen und Nährlösungen in den einzelnen Proben eines Serienversuches geachtet werden muß, sondern auch auf vollkommenste Gleichheit der zur Verwendung kommenden Gäreprouvetten und deren genau gleiche Lagerung. Obige Versuche zeigen weiter, daß durch richtige Auswahl der Hefemenge, selbst Ursachen, die bei Anwendung von unzweckmäßig konzentrierten Hefesuspensionen große Fehler bedingen, in ihrer fälschenden Wirkung abgeschwächt werden. Durch Heranziehung von möglichst vielgliedrigen Serienversuchen und Benützung nur der errechneten Mittelwerte ist wohl auch eine Handhabe gegeben, die oben gezeigten und andere Fehlerquellen auszuschalten oder wenigstens abzuschwächen, doch ist diese Arbeitsweise infolge von Zeit- und Raumverlust recht unzweckmäßig. Der Serienversuch hat außerdem letzten Endes nicht die Bestimmung, mehr oder weniger bewußt begangene Fehler zu neutralisieren, sondern nur unbewußt begangene Fehler und soll vor allem der Beweisführung der Konstanz und Regelmäßigkeit eines beobachteten Phänomens dienen. In diesem Sinne erhält das Ergebnis des Serienversuches nicht nur versuchs-technische, sondern auch biologisch-wissenschaftliche Bedeutung und Wert.

Literatur.

1. Cardot et Richet, Ann. Inst. Pasteur. Tom. 33. 1919. p. 575. — 2. Carlson, T., Über Geschwindigkeit und Größe der Hefevermehrung in Würze. (Biochem. Ztschr. Bd. 57. 1913. S. 313.) — 3. Lindner, P., Ztschr. f. techn. Biol. Bd. 7. 1919. S. 79; Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 35. 1918. S. 320; Bd. 37. 1920. S. 19. — 4. Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. Berlin (P. Parey) 1895. S. 54. — 5. Neuberg, C., und Ehrlich, M., Weiteres über die Beziehungen der Aldehyde zur alkoholischen Gärung. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 101. 1920. S. 266.) — 6. Reimesch, E., Ein neuer Gärungssaccharometer. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 88. 1933. S. 307.)

Nachdruck verboten.

Von Kaltgärhefen und Kaltgärung.

Von Dr. A. Osterwalder,
Adjunkt der Eidg. Versuchsanstalt f. Obst-, Wein- u. Gartenbau in Wädenswil.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Es kommt in den kleinbäuerlichen Betrieben der schweizerischen Obstbaugegenden, wo viel Mostobst zur Obstweinbereitung verwertet wird, häufig vor, daß die Gärung der Obstsäfte langsam verläuft und nicht selten lange bevor aller Zucker vergoren ist aufhört, der Saft, wie man sich auszudrücken pflegt, in der Gärung steckenbleibt. Es können hieran verschiedene Gründe schuld sein. So enthalten unsere Obstsäfte häufig zu wenig stickstoffhaltige Nahrung für die Gärhefen, die solcher zu ihrem Wachstum und ihrer Vermehrung bedürfen. Sie unterscheiden sich hierin wesentlich von den Traubensäften, die diese Nährstoffe im Überfluß besitzen und sogar 5- und 6-fach mit Wasser verdünnt noch rasch gären. Die verschiedenen Sorten Obstsäfte verhalten sich nun allerdings nicht alle gleich, indem die einen reicher an Hefenährstoffen sind und auch rascher durchgären als andere, die oft auffällig wenig Hefenahrung enthalten; dabei ist natürlich das Reifestadium der Früchte zur Zeit der Saftbereitung auch nicht ohne Einfluß. Um dieser Art Gärhemmung vorzubeugen, ist es denn auch nach der Eidg. Lebensmittelverordnung vom 23. Februar 1926 gestattet, Obstsäften vor der Gärung je hl 20 g Ammonsulfat als Nährsalz für die Hefe zuzusetzen.

Außer Stickstoffmangel kann bei Obstsäften aber häufig noch ein zweiter Umstand gärhemmend einwirken: Zu kalte Gärkeller, zu tiefe Gärtemperatur. Die Obstsäfte von Frühbirnen, z. B. den Theilersbirnen, einer in der schweizerischen Hochebene weit verbreiteten Sorte, oder von Gelbmöstlern, die schon im September gekeltert werden und in Gärung übergehen, haben in der Regel unter ungünstigen Temperatureinflüssen nicht zu leiden; anders bei den Spätbirnen und Äpfeln, die erst im Oktober oder November, wenn die Kellertemperaturen schon stark zurückgehen, eingebracht und zur Saftbereitung verwendet werden. Da kann es vorkommen, daß solche Säfte bei noch wärmerer Temperatur in Gärung übergehen, sich aber bald von oben klären, indem die Hefen, deren Gärtätigkeit bei sinkender Temperatur nachläßt, sich wegen der abnehmenden Kohlensäurebildung und geringeren Auftriebes setzen. Es ist unter solchen Verhältnissen dann keine Seltenheit, daß die Obstsäfte gegen das Frühjahr hin noch süß sind, was zum Unheil ausschlagen kann, wenn bei steigender Temperatur die Bakterien des Milchsäurestiches, die Mannitbakterien, sich vermehren und den Zucker in Milchsäure, Essigsäure, Mannit und Kohlensäure zersetzen, Milchsäurestich erzeugen. Der erfahrene Praktiker wird es aber nicht so weit kommen lassen, sondern die Gärung rasch in Gang zu bringen und bis zum letzten Zuckerrest zu erhalten suchen.

Neben dem Nährsalzzusatz, speziell bei Birnsäften, wird von der hiesigen Versuchsanstalt stets auch die Anwendung von Reinhefen zur Förderung der Gärung empfohlen, wobei man bisher besonders auf gärkräftige Hefen das größte Gewicht legte. Obwohl nun aber bis vor wenigen Jahren von der hiesigen Hefe-Reinzuchtstation nur die besten von den geprüften

Reinhefen an die Mostproduzenten abgegeben worden sind, entsprachen die damit gemachten Erfahrungen nicht immer den von den Bauern gehegten Erwartungen, wobei der Fehler nicht immer bei den Praktikern zu suchen war, sondern, wie sich immer mehr herausstellte, darauf zurückgeführt werden mußte, daß die Reinhefe infolge ungünstiger Temperaturverhältnisse nicht oder nur langsam zu wachsen und zu gären vermochte. Es wurde bisher bei der Hefereinzucht speziell für die Obstweingärung viel zu wenig dem Umstand Rechnung getragen, daß selbst gärkräftige Hefen bei tieferen Temperaturen, wie sie der Winter mit sich bringt, nicht mehr oder nur langsam gären; wir werden dies an Hand von Zahlen z. B. von der gärkräftigen Reinhefe Steinberg 1917 u. a. zeigen. Es ist denn auch verständlich, wenn aus der Mostereipraxis heraus der Wunsch nach Gärhefen laut wurde, die auch noch im kühlen Keller gären. Aus diesem Grunde haben wir seit ca. 8 Jahren ein spezielles Augenmerk auf die Züchtung von Reinhefen gerichtet, die auch bei tieferen Temperaturen, wie solche den Winter hindurch in den Kellern etwa möglich sind, noch gären.

Die Hefen vermehren sich und gären um 25° C herum am raschesten; je weiter sich aber die Temperaturen von diesem Optimum entfernen, um so mehr werden sie im Wachstum und der Gärtätigkeit gehemmt; bei 33° C z. B. verläuft die Gärung nicht mehr in allen Fällen vollständig zu Ende, d. h. bis aller Zucker verschwunden ist und auch unterhalb 10° erfährt sie eine starke Verzögerung. Doch verhalten sich in dieser Hinsicht nicht alle Heferassen und Arten gleich, indem die einen, die wir Kaltgärhefen nennen wollen, die tieferen Temperaturen besser vertragen als andere. Wer die Gärung bei tiefen Kellertemperaturen, wie solche den Winter hindurch vorkommen, fördern will, wird es daher mit Kaltgärhefen versuchen und bei der Anwendung von Reinhefen diesen den Vorzug geben.

Bei der Heranzucht und Prüfung von Kaltgärhefen für die Obstweingärung suchten wir zunächst die Hefen aus Obstsäften zu gewinnen, später aus Traubenweinen. Wir stellten jeweils in üblicher Weise Gelatine-Plattenkulturen von Hefetruben aus Obst- und Traubenweinen her, um aus diesen dann eine Anzahl Hefen reinzuzüchten, die, in Flaschen mit sterilem, unvergorenem Traubensaft ausgesät, bei ca. 5° C auf ihr Gärvermögen geprüft wurden. Nur jene Hefen, die dann noch merklich gärten, was mehr nur ausnahmsweise vorkam, zogen wir zu weiteren Versuchen heran, speziell zu Untersuchungen auf ihr Wachstum, ihre Gärtätigkeit und Gärprodukte, d. h. die chemische Zusammensetzung der von ihnen bei verschiedenen Temperaturen vergorenen Weine[1]).

So wurde denn auf die ebenerwähnte Weise aus einem im hiesigen Anstaltskeller spontan, also ohne Reinhefezusatz, vergorenen Theilersbirnwein eine Kaltgärhefe gewonnen, die sich wesentlich verschieden von unseren bisherigen besten Gärhefen in bezug auf das Gärvermögen bei kühleren Temperaturen verhält. Man vergleiche nur einmal die Gärverläufe dieser Wädenswil-Schloß$_3$ genannten Hefe und einer unserer bisherigen besten Weißweinhefen Steinberg 1917 miteinander (Tab. 1).

[1]) Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle auch des technischen Gehilfen, Herrn H. Haller, zu gedenken, der mich bei all diesen Arbeiten tatkräftig unterstützte, wofür ich ihm meinen wärmsten Dank ausspreche.

Tab. 1. Kohlensäureabgabe in g je l bei 4—5° C.

Nach Tagen	Wädenswil-Schloß$_3$	Steinberg 1917	Meilen 2
17	11,9	0	0
31	32,3	0	0
45	45,4	0	1,8
60	53,3	1,1	3,5
75	58,0	3,3	5,5
90	59,9	6,0	7,4
109	60,4	8,6	9,8
125	60,4	11,0	11,5
184	—	21,1	18,5

Für die Gärversuche in ½-l-Flaschen mit sterilem Räuschling-Traubensaft bei einer Temperatur von 4—5° C sind die verschiedenen Reinhefen jeweils gleichmäßig in Traubensaft vorgezüchtet und aus diesem im frisch gärenden Zustand mittelst Platinöse in die nachher mit Gärverschlüssen versehenen Gärflaschen ausgesät worden. Die Hefeaussaat war also eine ganz geringe und zählte nur wenige 100 Zellen. Nur so war es möglich, die Wachstumsgeschwindigkeit der Hefen bei tiefer Temperatur richtig zu beurteilen. Mit dem Wachstum der Hefen hält die Gärung Schritt; je mehr Hefen, um so rascher die Gärung und umgekehrt. Die infolge Kohlensäureverlustes eingetretene Gewichtsabnahme bei der Gärung, in Gramm je Liter in den verschiedenen Tabellen jeweils angegeben, vermag uns also ein ziemlich getreues Bild vom Verlauf der Gärung zu geben.

Nach ca. 90 Tagen war der mit Wädenswil-Schloß$_3$ beschickte Traubensaft, wie aus den sich nicht mehr stark ändernden Gewichtsabnahmen geschlossen werden darf, vergoren, enthielt ungefähr 6 Gewichts-% Alkohol, während die zum Vergleich herangezogene Steinberg 1917 zu dieser Zeit eben zu gären sich anschickte, nach der Gewichtsabnahme von 6 g je l zu urteilen, ungefähr ½ Gewichts-% Alkohol gebildet haben mochte. Nun könnte man die größere Empfindlichkeit dieser Heferasse gegenüber tieferen Temperaturen darauf zurückführen, daß die im Jahre 1917 von uns aus einem Weißwein der Weinbau-Domäne Steinberg im Rheingau reingezüchtete Hefe seither immer bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde. Daß die Kälteempfindlichkeit damit aber nichts zu tun hat und nicht etwa eine Anpassungserscheinung ist, sondern ein art- oder rasseneigenes Merkmal sein muß, dafür ist uns die Reinhefe Meilen 2 ein Beispiel, eine wie Wädenswil-Schloß$_3$ im Jahre 1924 reingezüchtete Hefe, die sich nicht viel anders als Steinberg verhielt, auch nicht etwa eine gärschwache Hefe ist, sondern zu den gärkräftigen Hefen gehört,.z. B. in einem Fall, als eine höhere Temperatur sie eher begünstigte, im Verlauf von 54 Tagen 9,1 Gewichts-% Alkohol bildete, fast gleich viel wie unter gleichen Verhältnissen und zur gleichen Zeit Steinberg 1917 mit 9,2% Alkohol.

Wir könnten hier auch auf einen vergleichenden Gärversuch mit einer von uns im Jahre 1925 aus einem Walliser Fendant reingezüchteten Weinhefe, die sich durch eine besondere Widerstandsfähigkeit gegenüber freier schwefliger Säure auszeichnet, einer sog. Sulfithefe, und der Kaltgärhefe Wädenswil-Schloß$_3$ Bezug nehmen. Die Ergebnisse dieses Versuches, ebenfalls mit Räuschling-Traubensaft in ½-l-

Flaschen, in die die frisch gezüchteten Hefen mittels Platinöse ausgesät wurden, sind aus Tab. 2 ersichtlich.

Tab. 2. Kohlensäureabgabe in g je l bei 25 und 5°.

Nach Tagen	25°		5°	
	Wädenswil-Schloß$_3$	Sulfithefe	Wädenswil-Schloß$_3$	Sulfithefe
6	32,0	36,6	0	0
12	48,2	53,7	0	0
20	52,7	61,7	11,9	0
30	53,6	64,3	25,8	0,7
46	53,8	—	44,4	2,8
53	56,6‰ Alkohol 25,6‰ Zucker 12¼° Öchsle	65,7‰ Alkohol 2,7‰ Zucker 1° Öchsle	58,5‰ Alkohol 23,3‰ Zucker 10° Öchsle	7,6‰ Alkohol 128,5‰ Zucker 60° Öchsle

Der Versuch ist bei 25 und 5°C durchgeführt worden, wie man sieht, mit ganz verschiedenem Erfolg. Schon die Gewichtsabnahmen lassen dies erkennen, nicht minder aber auch die Zucker- und Alkoholbestimmungen am Ende der Versuchsdauer. Bei 25° C erweist sich die Sulfithefe in der Gärkraft der Hefe Wädenswil-Schloß$_3$ als überlegen; der damit vergorene Wein enthielt nach 53 Tagen 6,5 Gewichts-% Alkohol neben 0,27% Zucker gegenüber 5,6% Alkohol und 2,56% Zucker im Wein mit Wädenswil-Schloß$_3$. Bei 5° C hat die letztere Hefe bedeutend besser gegoren, in 46 Tagen der mit dieser Hefe geimpfte Traubensaft je Liter um 44,4 g Kohlensäure abgenommen, der mit Sulfithefe dagegen nur um 2,8 g; nach 53 Tagen waren im ersteren 5,8 Gewichts-% Alkohol bestimmt worden, im Wein mit der Sulfithefe nur 0,76%. Das Verhalten von Steinberg 1917 wie der Sulfithefe bei tiefen Temperaturen, wie sie in den Kellern unserer kleinbäuerlichen Betriebe im Winter nicht selten sind, zeigt, wie wenig unseren Bauern mit solch kälteempfindlichen Reinhefen im Spätherbst bei der Vergärung von Spätbirn-, Apfel- oder auch Traubensäften gedient ist.

Wiederholt ist die Kaltgärhefe Wädenswil-Schloß$_3$ in Traubensaft gleichzeitig verschiedenen Temperaturen ausgesetzt worden, wozu wir uns eines sog. Panum schen Thermostaten bedienten, eines liegenden in ca. 1 Dutzend Fächer eingeteilten, auf der einen Seite von einem Eisschrank, auf der anderen von einem Heißwasserkasten flankierten Schranks. Diese Anordnung ermöglicht, die Wärmegrade von den tieferen bis zu den höheren Graden in gewollter Weise zu staffeln und bei geeigneten Maßnahmen auch konstant zu erhalten. Als Versuchstemperaturen wählten wir 33, 29, 25, 21, 17, 13, 9 und 5° C, die alle während der Versuchsdauer nur wenig schwankten. In jedes der Fächer mit einer der genannten Temperaturen wurden 2 Gärflaschen mit je ½ l Traubensaft gestellt, den wir mittels einer Platinöse mit frisch gärender Hefe Wädenswil-Schloß$_3$ je Flasche impften.

In Tab. 3 sind die infolge der Gärung entstandenen Gewichtsabnahmen, von der jeweils besser gärenden Flasche nach der angebenen Zahl von Tagen auf den Liter berechnet, aufgeführt. Wie zu erwarten war, verlief die Gärung bei 25° C am raschesten, während aufwärts und abwärts, gegen 33 und 5° C hin, sich deutliche Hemmungen im Gärverlauf bemerkbar machten. Am schlechtesten hatte der Traubensaft bei 33° C gegoren, innerhalb 3 Monaten

von ursprünglich 56° Öchsle bis auf 41° hinunter. Selbst bei 29° war die Vergärung noch eine unvollständige und sank das Mostgewicht des Traubensaftes in 3 Monaten bis auf 6½° Öchsle. Langsam in Gang kam die Gärung bei 9° und namentlich 5°, was mit der langsamen Vermehrung der Hefen bei diesen tiefen Temperaturen zusammenhängt. Das Wachstum der Hefen muß aber doch ein anhaltendes und verhältnismäßig gutes gewesen sein, wie die Gewichtsabnahmen nach 19 Tagen und später beweisen. Am Ende der Versuchsdauer, nach 3 Monaten, zeichneten sich die von 13° an kühl gelagerten Proben durch den höchsten Vergärungsgrad, der bis ½° unter 0° Öchsle erreichte, aus, gegenüber ½° Öchsle des bei 25° am raschesten gegorenen Saftes und 1½° Öchsle der bei 17 und 21° aufgestellten Saftproben.

Tab. 3. Kohlensäureabgabe in g je l bei verschiedenen Temperaturen.

Nach Tagen	33° Nr. 4	29° Nr. 7	25° Nr. 12	21° Nr. 15	17° Nr. 20	13° Nr. 23	9° Nr. 28	5° Nr. 31
5	6,7	21,5	31,9	26,7	7,1	2,3	0	0
10	7,1	27,1	43,7	39,2	21,3	20,7	7,9	0
19	7,8	30,7	50,9	48,8	32,7	38,0	35,5	7,7
29	9,0	34,7	52,9	52,8	39,9	45,9	48,2	27,9
40	10,1	39,4	53,3	54,3	45,7	50,3	50,9	40,4
48	10,9	44,7	53,5	54,5	48,1	51,3	51,2	45,8
69	13,5	49,6	—	—	51,8	52,1	51,7	50,0
78	15,7	49,7	—	—	52,3	—	—	50,5

Tab. 4. Chemische Analyse nach 3 Monaten.

Flasche Nr.	Temperatur °	Gesamtsäure als Weinsäure g im l	Flüchtige Säure als Essigsäure g im l	Alkohol g im l	Gesamtzucker g im l	Extrakt g im l	Öchsle °
4	33	15,9	0,4	—	—	—	41
7	29	15,1	0,3	—	—	—	6,5
12	25	14,4	0,3	55,2	0,9	29,5	0,5
15	21	14,0	0,2	—	—	—	1,5—2
20	17	14,2	0,3	—	—	—	1,5
23	13	13,7	0,2	—	—	—	0
28	9	13,4	0,1	—	—	—	—0,3
31	5	13,6	0,2	56,7	1,1	28,5	—0,5
Steril		15,6	0,1	0,7	116,0	146,3	56

Es zeigte sich auch hier, was man übrigens schon länger weiß, daß mit zunehmender Temperatur der Vergärungsgrad abnimmt, die Alkoholbildung bei der Kaltgärung weiter geht als in wärmer vergorenen Säften, bei 5° im vorliegenden Beispiel 5,7 Gewichts-% erreichte gegenüber 5,5% beim Gäroptimum von 25°. Was die Gesamtsäure und Essigsäure in den am Ende der 3monatigen Versuchsdauer daraufhin untersuchten Weinen anbetrifft, so hat die Essigsäure mit steigender Gärtemperatur etwas zugenommen; wesentlich höher sind auch die Gesamtsäuregehalte in

den wärmer vergorenen Proben, was mit einer geringeren Weinsteinausscheidung zusammenhängt, die bei den kühler gestandenen Weinen infolge reichlicherer Alkoholbildung einerseits und durch die tiefere Temperatur anderseits begünstigt worden ist. Auch bei diesem Versuch hat also die Reinhefe Wädenswil-Schloß$_3$ in der Zeit von ca. 2½ Monaten bei 5° C einen Traubensaft von 56° Öchsle mit 11,6% Gesamtzucker sozusagen vollständig vergoren.

Wie bereits erwähnt, stammt Wädenswil-Schloß$_3$ aus einem Theilersbirnsaft; unsere weiteren Bestrebungen auf diesem Gebiet zielten dann darauf hin, Kaltgärhefen auch aus Weiß- und Rotweinen zu gewinnen, nicht nur, um die betreffenden Hefen zur Förderung der Gärung von weißen und roten Traubensäften bei tieferen Temperaturen zu benutzen, sondern auch, um geeignete davon zur Kaltgärung von Obstsäften zu verwenden, da die aus Weinen stammenden Hefen nicht selten doch zu den edleren Hefen zählen, die namentlich Geruch und Geschmack vorteilhafter zu beeinflussen vermögen als die aus Obstweinen gewonnenen. Die Hefen Herrliberg, Meilen$_4$ und Erlenbach aus Räuschling-Weißweinen des rechten Zürichsee-Ufers, Jahrgang 1928, bilden eine Auslese aus einer kleineren Zahl solcher Reinzuchten, die auf ihre Gärkraft und Gärprodukte und ihr Verhalten gegenüber niederen Temperaturen geprüft wurden. Von Rotweinhefen aus verschiedenen Rotweinen der Schweiz, die in gleicher Weise wie die eben erwähnten Weißweinhefen einer Prüfung auf ihre Gärkraft und weitere Eigenschaften unterzogen wurden, wählten wir Hallau$_a$ aus einem Rotwein 1930 von Hallau (Kt. Schaffhausen), Neftenbach$_b$ aus einem Rotwein 1930 von Neftenbach (Züricher Weinland), Rosenberg Berneck aus einem Rotwein 1930 des St. Galler Rheintals. Alle diese Hefen, die nach den zuerst durchgeführten Vorversuchen bei 5° noch gären, verglichen wir miteinander hinsichtlich Gärkraft und Gärprodukte im Traubensaft bei 16 und 5°. Zum Vergleich zogen wir noch die beiden Hefen Aßmannshausen 5 und Sp$_2$ heran, von denen die erstere schon seit langen Jahren von der hiesigen Hefereinzuchtstation zur Vergärung von Rotweinen abgegeben wird, während Sp$_2$ aus einem 1926er spanischen Weißwein gezüchtet wurde, beides Hefen mit einer großen Gärkraft, d. h. großem Alkoholbildungsvermögen.

Tab. 5. Kohlensäureabgabe in g je l bei 16° C.

Nach Tagen	Herrliberg	Meilen$_4$	Erlenbach	Rosenberg Berneck	Neftenbach b	Hallau a	Aßmannshausen$_5$	Sp$_2$
4	1,0	1,0	0,6	0,5	2,2	0,7	0,1	0,0
7	22,7	17,0	16,7	15,8	25,3	12,6	14,1	3,0
10	36,2	28,1	27,2	25,3	37,9	20,2	35,8	17,4
13	43,6	35,9	34,8	31,8	45,2	25,5	49,3	31,1
21	54,8	49,7	48,7	44,3	57,1	37,3	69,8	51,3
29	61,5	59,7	58,9	53,4	64,6	47,5	82,2	62,4
39	65,4	68,1	67,7	61,7	68,2	57,4	88,5	72,5
52	66,4	72,1	73,4	67,6	69,0	61,7	91,7	84,3
74	66,9	73,8	76,0	71,5	69,5	65,6	93,3	99,7
122	67,2	74,4	76,6	73,0	69,8	73,2	94,1	115,4
176	67,2	74,6	76,7	73,3	69,8	75,7	94,6	120,1

Der vergleichende Versuch sollte zugleich noch zeigen, wie viel Zucker die uns in dieser Hinsicht, mit Ausnahme von Aßmannshausen 5 und Sp_2, noch unbekannten Hefen zu vergären vermögen, weshalb der Räusch-ling-Traubensaft, den man wiederum in ½-l-Flaschen abfüllte, und mit einer Platinöse voll frischer Hefeflüssigkeit je Flasche impfte, stark gezuckert wurde, so daß er nach der Zuckerung 27,2% Zucker enthielt. Die Gärung verlief in den Flaschen mit den verschiedenen Hefen bei 16° ungleich, wie dies die Kohlensäureverluste je Liter in den in Tab. 5 angegebenen Zeiten beweisen.

Die einen Hefen, wie z. B. Herrliberg und Neftenbach$_b$, gärten anfangs rascher als andere, um dann aber schon nach 40—50 Tagen innezuhalten, wogegen die Hefe aus Spanien, Sp_2, die anfangs am schlechtesten gor, beharrlich weiter Zucker zersetzte bis auf einen ganz geringen Rest von 1½‰. Bei der Analyse, 1 Jahr und 68 Tage nach Versuchsbeginn, enthielt der mit Sp_2 vergorene Wein 13,1, der mit Aßmannshausen$_5$, welche Hefe schon nach 74 Tagen die Gärtätigkeit einstellte, in anderen Fällen aber in der Alkoholbildung Sp_2 nicht viel nachsteht, 10,7 Gewichts-% Alkohol neben 4,6% Gesamtzucker (Tab. 6).

Tab. 6. Chemische Analyse nach 14½ Monaten (16°).

	Gesamt-säure als Weinsäure g im l	Flüchtige Säure als Essigsäure g im l	Alkohol g im l	Gesamt-Zucker g im l	Öchsle °
Herrliberg	12,3	0,4	71,1	—	48¼
Meilen$_4$	11,6	0,3	76,5	—	42
Erlenbach	12,0	0,4	79,8	—	40
Rosenberg-Berneck . .	12,2	0,4	76,9	111,6	42½
Neftenbach$_b$	12,3	0,5	71,4	—	48
Hallau$_a$	12,4	0,5	80,1	—	40
Aßmannshausen$_5$ . . .	12,5	1,3	107,6	46,2	11½
Sp_2	11,9	0,9	131,5	1,6	—8
Steril	13,0	0,2	0,9	272,6	110½

Alle übrigen Hefen, die aus den meist nicht sehr alkoholreichen Weinen unseres Landes stammen, hatten es bis zu 7—8 Gewichts-% Alkohol gebracht, meist schon innerhalb 2—3 Monaten.

Wie bei 16° führten wir gleichzeitig mit demselben Traubensaft und den Hefen aus denselben Kulturen den Versuch auch bei 5° C durch.

Da muß nun in Tab. 7, wo die Kohlensäureverluste je Liter in den angegebenen Zeiten aufgeführt sind, auffallen, wie die beiden Hefen Aßmannshausen$_5$ und Sp_2, bei 16° die besten Gärhefen, bei 5° weit hinter den übrigen zurückblieben. Sp_2 ist gar nicht gewachsen, Aßmannshausen$_5$ nur langsam. In derselben Zeit von 90 Tagen, da Aßmannshausen$_5$ bei 16° den Alkoholgehalt bis auf 10—11 Gewichts-% steigerte, nahm dieser im entsprechenden Wein bei 5° kaum um 2% zu. Dagegen enthielten die Weine mit den übrigen Hefen, die die kühlen Gärtemperaturen besser vertragen, mit Ausnahme von Hallau$_a$, am Ende der Versuchsdauer von 15 Monaten mehr Alkohol als bei 16°, der mit Herrliberg z. B. 9% statt 7,1% bei 16°, Neftenbach$_b$ 8% gegen 7,1%, Rosenberg-Berneck 8,4% gegen 7,7% (Tab. 8). Auch bei diesem Versuch haben also die Kaltgärhefen

bei tieferer Temperatur, wenn auch langsamer, so doch weiter gegoren, mehr Alkohol erzeugt als bei 16°.

Tab. 7. Kohlensäureabgabe in g je l bei 5° C.

Nach Tagen	Herrliberg	Meilen$_4$	Erlenbach	Rosenberg Berneck	Neftenbach$_b$	Hallau$_a$	Aßmannshausen$_5$	Sp$_2$
30	16,0	11,2	15,4	12,1	11,4	12,2	—	0
45	27,0	19,6	28,4	23,3	20,5	21,4	4,5	—
60	35,5	25,5	36,8	31,0	25,3	27,5	10,6	—
76	44,4	30,8	44,3	37,9	30,7	33,8	15,9	—
101	52,3	36,8	52,3	45,0	36,7	40,4	21,3	0
119	58,3	41,4	59,1	52,6	42,7	45,9	27,2	—
168	69,6	51,0	68,2	62,5	53.2	54,7	33,8	—
249	79,1	62,1	77,1	71,2	64,5	61,3	40,6	—
1 Jahr 68 Tg.	83,2	68,4	80,5	76,2	71,2	63,3	51,8	0

Tab. 8. Chemische Analyse nach 15 Monaten (5°).

	Gesamtsäure als Weinsäure g im l	Flüchtige Säure als Essigsäure g im l	Alkohol g im l	Gesamtzucker g im l	Öchsle °
Herrliberg	12,6	0,3	90,5	—	30¼
Meilen$_4$	12,8	0,3	77,0	—	42½
Erlenbach	12,5	0,2	89,7	87,1	31¼
Rosenberg-Berneck	12,7	0,3	84,8	99,2	35
Neftenbach$_b$	13,1	0,3	80,7	—	38¼
Hallau$_a$	13,0	0,4	71,8	—	48
Aßmannshausen$_5$	14,0	1,3	59,7	143,6	56½
Sp$_2$	13,0	0,2	1,2	271,9	112
Steril	13,0	0,2	0,9	272,6	110½

Was die analytischen Zahlen der Säure-, Zucker- und Alkoholbestimmungen von den ungleich warmvergorenen Weinen, die in den Tabellen 6 und 8 erwähnt sind, anbetrifft, so bedürfen sie mit einer Ausnahme wohl keiner weiteren Erklärung. Auffällig sind die hohen Gehalte an flüchtiger Säure bei Aßmannshausen$_5$ und Sp$_2$ bei 16°, sowie von Aßmannshausen$_5$ bei 5°.

Es ist eine bekannte Erscheinung, auf die z. B. auch R. von der Heide[1]) aufmerksam gemacht hat, daß die Hefen mehr flüchtige Säure bei der Vergärung zuckerreicher Säfte bilden als in solchen mit mäßigem, normalem Zuckergehalt. Daß aber die flüchtige Säure nicht in allen Weinen, sondern nur in den mit Aßmannshausen$_5$ und Sp$_2$ stark zugenommen hat, dagegen nicht bei den Kaltgärhefen, die doch bei 5° mehr Zucker vergoren als Aßmannshausen$_5$, beweist, daß die Bildung größerer Mengen flüchtiger Säuren nicht nur durch den höheren Zuckergehalt bedingt wird, sondern auch noch von der Hefeart oder Rasse abhängt.

[1]) Von der Heide, Bericht der Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau in Geisenheim. 1907. S. 254.

Die große Empfindlichkeit der Reinhefe Sp_2, die aus dem Süden stammt, gegenüber einer Temperatur von 5° erscheint verständlich, da die Gärtemperaturen in spanischen Weinen wohl nur ganz ausnahmsweise so tief sinken werden. Anderseits kommen aber auch unter unseren Himmelstrichen Hefen vor, die kühle bis kalte Gärtemperaturen nur schlecht vertragen und unter solchen Verhältnissen nur langsam wachsen. Wir haben bereits Steinberg 1917 aus dem deutschen Rheingau, ferner eine aus dem Kanton Wallis stammende Sulfithefe und $Meilen_2$ vom Zürichsee genannt. Tab. 9 enthält noch weitere Beispiele solcher Art; es sind dies alles Reinhefen aus unserer Hefesammlung, die zu den gärtüchtigsten zählen und deshalb im großen gezüchtet und an die Praxis abgegeben werden. Zu Vergleichszwecken sind auch die bisher wiederholt genannten $Wädenswil\text{-}Schloß_3$, Herrliberg, Erlenbach, $Aßmannshausen_5$, Steinberg 1917 und Sp_2 in den Versuch einbezogen worden. Sämtliche in Tab. 9 aufgeführten Hefen wurden gleich vorgezüchtet, zuerst mehrmals in Traubensaft umgeimpft und aus frischen Kulturen mittels Platinöse in ½-l-Flaschen mit Traubensaft ausgesät, welche einer Temperatur von 4½—5°, die während der warmen Jahreszeit im 4. Monat der Versuchsdauer zeitweise bis auf 7° anstieg, ausgesetzt waren.

Tab. 9. Kohlensäureabgabe in g je l bei 5—7° C.

Nach Tagen	$Wädenswil\ Schloß_3$	Herrliberg	Erlenbach	$Jenins_c$	$Malans_c$	$Maienfeld_{1a}$	$Sitten_3$
15	7,4	7,4	13,4	0	0	0	0
30	28,2	24,9	30,8	0	1,3	0	0,5
47	41,1	41,0	45,6	0,9	5,6	1,0	1,1
62	51,7	51,3	53,4	2,1	9,7	2,7	2,0
75	55,1	55,7	56,1	2,9	12,6	3,8	2,8
90	58,2	59,1	58,6	3,4	15,8	4,9	3,6
104	59,5	60,5	60,0	4,4	19,9	6,0	4,6
121	61,0	61,2	60,8	5,3	26,3	7,1	5,5
137	—	—	—	6,0	27,2	7,6	6,4
225	—	—	—	43° Ö.	1½° Ö.	30° Ö.	42° Ö.

Tab. 9. (Fortsetzung.)

Nach Tagen	$Aßmannshausen_5$	$Pfalz_1$	Steinberg 1917	$Fendant_4$	Sulfithefe	Ay	Sp_2
15	0	0	0	0	0	0	0
30	1,2	1,8	0,4	0	0	0,6	—
47	5,1	6,2	3,5	0	0,6	3,8	—
62	9,5	10,1	6,7	1,8	1,1	7,6	0
75	13,6	12,6	8,4	4,5	1,4	9,8	—
90	18,0	14,5	10,2	6,3	1,6	12,2	—
104	23,4	16,3	12,9	7,9	1,8	15,9	0
121	28,9	17,9	15,3	9,1	2,0	20,2	—
137	29,4	17,9	16,5	9,7	3,0	20,6	0
225	10½ Ö.	31° Ö.	36½° Ö.	24½° Ö.	37½° Ö.	½° Ö.	

Von den Gärverläufen der einzelnen Hefen, die wiederum durch die Kohlensäureverluste in Gramm je Liter in der angebenen Zeit dargestellt

sind, sagen uns diejenigen der 3 Hefen, Wädenswil-Schloß$_3$, Herrliberg und Erlenbach, nichts Neues; alle 3 erwiesen sich wiederum als ausgeprägte Kaltgärhefen, die in ca. 3 Monaten fast allen Zucker (ca. 14%) vergärten. Bei der mit Rücksicht auf die übrigen langsamer gärenden Hefen erst nach 132 Tagen vorgenommenen Analyse enthielten die Weine mit Wädenswil, Herrliberg und Erlenbach 6,7—6,8 Gewichts-% Alkohol (Tab. 10).

Tab. 10. Chemische Analyse nach 132 Tagen.

	Gesamtsäure als Weinsäure g im l	Flüchtige Säure als Essigsäure g im l	Alkohol g im l	Gesamtzucker g im l	Öchsle °
Wädenswil-Schloß$_3$	14,2	0,2	68,1	2,9	0
Herrliberg	14,5	0,2	67,7	2,3	½
Erlenbach	14,2	0,2	67,8	2,4	0
Jenins$_c$	15,2	0,3	11,7	115,6	51
Malans$_c$	15,1	0,3	36,0	64,9	30
Maienfeld$_{1a}$	15,1	0,4	13,5	112,4	50
Sitten$_3$	14,9	0,3	12,4	116.5	51
Aßmannshausen$_5$	15,1	0,4	37,0	62,0	27
Pfalz$_1$	15,1	0,4	24,3	88,8	39
Steinberg 1917	15,5	0,5	22,6	92,9	42
Fendant$_4$	15,1	0,3	15,8	107,8	48
Sulfithefe	15,0	0,2	9,1	123,1	54
Ay	15,3	0,5	30,8	76,7	34¼
Sp$_2$	14,6	0,1	0,9	141,7	62
Steriler Traubensaft	14,7	0,1	0,5	142,1	64½

Alle anderen Hefen waren durch die niedrige Gärtemperatur im Wachstum und der Gärung stark gehemmt worden, die spanische Weißweinhefe Sp$_2$ am meisten. Sie war nicht gewachsen, doch nicht etwa abgestorben, denn, als eine Gärflasche nach 90 Tagen noch ohne Lebenszeichen ins warme Zimmer verbracht worden war, wuchs Sp$_2$ und nahm der Saft je Liter z. B. innerhalb 17 Tagen um 32,4 g ab. Sp$_2$ war die einzige Hefe, die innerhalb 132 Tagen bei 4½—7° nicht zum Gären kam; alle anderen vermehrten sich und gärten, am besten, außer den 3 genannten Kaltgärhefen, Aßmannshausen$_5$, die es in den 132 Tagen auf 3,7 Gewichts-% Alkohol brachte, dann Malans$_c$ mit 3,6 Gewichts-% Alkohol. Bemerkenswert ist das ungleiche Verhalten der 3 Hefen Jenins$_c$, Malans$_c$ und Maienfeld$_{1a}$, die alle gleichzeitig im Jahr 1922 aus Rotweinen der Herrschaft (Kt. Graubünden) gewonnen wurden und bei 16—20° C in der Gärkraft einander gleichen. Trotzdem ist Malans$_c$ weniger kälteempfindlich als Jenins$_c$ und Maienfeld$_{1a}$, die beide in der langen Zeit von 132 Tagen nur 2—3% Zucker vergärten. Ungefähr gleich kälteempfindlich wie diese letzteren erwies sich die im Jahre 1908 aus einem Walliser Dôle gezüchtete Sitten$_3$ mit 1,2 Gewichts-% Alkohol. Die Gärleistungen der im Jahre 1917 gewonnenen Steinberg 1917 und der 1926 aus einem Pfälzerwein isolierten Pfalz$_1$, zweier bei 15—20° gärkräftigen Hefen, waren bei 4½—7° ungefähr gleich, 2,3% und 2,4 Gewichts-% Alkohol, obwohl die eine fast 10 Jahre weniger lang bei Zimmertemperatur lebte. In den Weinen mit den ungefähr gleich alten Hefen Pfalz$_1$ und Sulfithefe

ist bei der letzteren 0,9 Gewichts-% Alkohol bestimmt worden, bei $Pfalz_1$, wie schon erwähnt, 2,4%. Die Sulfithefe darf also wohl als die kälteempfindlichere gelten, auch gegenüber der viel älteren, vor mehr als 30 Jahren von Trauben aus der Champagne isolierten Hefe Ay, deren Alkoholproduktion in der Versuchszeit ca. 3 Gewichts-% erreichte. So spricht denn das verschiedene Verhalten der bisher erwähnten Reinhefen in bezug auf Kälteempfindlichkeit, wie auch die Tatsache, daß von Hefen aus demselben Wein die einen zu den Kaltgärhefen zählen, während andere kälteempfindlich sind, dafür, daß es sich bei dieser verschiedenen Kälteempfindlichkeit um eine erblich fixierte art- oder rasseneigene Eigenschaft handeln muß und nicht etwa um eine durch die Aufbewahrung der Hefen bei Zimmertemperatur nach und nach erworbene Eigenschaft, d. h. eine Anpassung an die Zimmertemperatur. Von den für jede Reinhefe und jede Versuchstemperatur verwendeten 2 Gärflaschen wurde die zweite nach 225 Tagen Versuchsdauer zu einer Untersuchung auf das Öchslesche Mostgewicht benutzt, aus dem ja auch auf den ungefähren Vergärungsgrad, d. h. Zuckergehalt, geschlossen werden kann, indem das Mostgewicht durch ca. 4,5 dividiert wird. Die Mostgewichte waren bis zu dieser Zeit weiter zurückgegangen, bei

Herrliberg, Erlenbach, $Wädenswil\text{-}Schloß_3$ . .	auf	$-\frac{1}{4}^0$	Öchsle
Ay	„	$\frac{1}{2}^0$	„
$Malans_c$	„	$1\frac{1}{2}^0$	„
$Aßmannshausen_5$	„	$10\frac{1}{2}^0$	„
$Fendant_4$	„	$24\frac{1}{2}^0$	„
$Maienfeld_{1a}$	„	30^0	„
$Pfalz_1$	„	31^0	„
Steinberg 1917	„	$36\frac{1}{2}^0$	„
Sulfithefe	„	$37\frac{1}{2}^0$	„
$Sitten_3$	„	42^0	„
$Jenins_c$	„	43^0	„

Es war anzunehmen, daß Hefen, die bei 5° wachsen und noch deutlich gären, bei 0° nicht ganz untätig sich verhalten würden und selbst bei dieser Temperatur noch Wachstum und Gärung bei Kaltgärhefen möglich seien, obgleich die Anschauung weit verbreitet ist, Fruchtsäfte gären bei 0° nicht mehr und würden im Süßmoststadium verharren und steril bleiben. Zwei Versuche in dieser Richtung dürften einiges Interesse beanspruchen. Die Versuchsflaschen mit je ½ l Räuschling-Traubensaft wurden jeweils in einer Kühlzelle mit 0° des hiesigen Obst-Kühlhauses aufbewahrt, deren Temperatur trotz der langen Versuchsdauer nach dem im Kühlraum aufgestellten Thermographen fast ganz konstant blieb und nur ausnahmsweise auf — 0,3 oder — 0,4° sank. Die Reinhefen waren wieder mit Platinöse in die verschiedenen Flaschen eingebracht und die letzteren jeweils nur nach längeren Zeiträumen gewogen worden. Für den ersten Versuch wählten wir die wiederholt erwähnten bewährten Kaltgärhefen $Wädenswil\text{-}Schloß_3$, Herrliberg, Erlenbach, die bei 5° Traubensäfte im Verlauf von ca. 3 Monaten durchgärten, außerdem $Meilen_4$ und Uerikon, zwei weitere Weißweinhefen vom Zürichsee mit ähnlichen Eigenschaften. Wie die Gewichtsabnahmen in Gramm pro Liter nach der angegebenen Zahl von Tagen in Tab. 11 erkennen lassen, sind alle diese Hefen bei 0° gewachsen und haben Zucker vergoren, während der Versuchsdauer von 148 Tagen $Wädenswil\text{-}Schloß_3$, Erlenbach und Uerikon ca. 1½% Zucker, Herrliberg und $Meilen_4$ ca. 2½%.

Tab. 11. Kohlensäureabgabe in g je l bei 0°.

Nach Tagen	Wädenswil-Schloß$_3$	Herrliberg	Meilen$_4$	Erlenbach	Uerikon
59	0	0,7	0,5	0	0
73	0,9	2,4	2,9	0	1,0
88	2,6	4,3	5,0	0,3	2,4
102	4,1	6,5	7,1	1,7	3,9
120	5,6	9,3	9,5	4,0	5,5
148	8,3	12,6	13,1	8,6	8,2

Der zweite diesbezügliche, gleich durchgeführte Versuch war von noch längerer Dauer und erstreckte sich auf die Prüfung von 3 Kaltgärhefen, der schon genannten Herrliberg und Erlenbach, sowie von Neftenbach$_b$, aus einem Rotwein des Zürcher Weinlandes, und zum Vergleiche auch einiger kälteempfindlicher Hefen, wie Steinberg 1917, Aßmannshausen$_5$ und Maienfeld$_{1a}$. Alle diese Hefen sind unter gleichen Verhältnissen vorgezüchtet worden.

Tab. 12. Kohlensäureabgabe in g je l bei 0°.

Nach Tagen	Herrliberg	Erlenbach	Neftenbach$_b$	Steinberg 1917	Aßmannshausen$_5$	Maienfeld$_{1a}$
56	7,0	7,9	7,7	0	0	0
84	13,8	15,6	14,9	—	—	—
112	18,3	20,4	20,1	—	—	—
140	21,5	23,8	23,8	0	0	0
166	23,4	26,1	26,4	—	—	—
197	26,0	28,3	28,6	—	—	—
221	27,6	29,8	30,4	—	—	—
239	28,8	31,1	31,5	0	0	0

Wie ein Blick auf Tab. 12 mit den Gewichtsabnahmen der mit den verschiedenen Hefen geimpften Säfte lehrt, haben Steinberg 1917, Aßmannshausen$_5$, Maienfeld$_{1a}$ während der langen Zeit von 239 Tagen gar nicht gegoren, was in Anbetracht der bei 5° schon recht erheblichen Gärhemmung verständlich erscheint. Daß die Hefen in den Flaschen ohne Gärung aber nicht etwa abgestorben waren, zeigt das weitere Verhalten der einen hierauf geprüften Flasche mit Aßmannshausen$_5$ in einem warmen Raum von 17°, wo schon nach 1 Tag eine leichte Gärung sich bemerkbar machte; vermutlich wird sich die Hefe bei 0° doch schon etwas vermehrt und gegoren haben, ohne daß dies mit den Wägungen hätte festgestellt werden können. Das Mostgewicht betrug denn auch nach Schluß des Versuches in der einen Flasche mit Aßmannshausen$_5$ = 65° Öchsle gegenüber 66° in den Säften mit Steinberg 1917 und Maienfeld$_{1a}$. Stark abweichend von diesen 3 Hefen vermehrten sich die Hefen Herrliberg, Erlenbach und Neftenbach deutlich und vergärten den Traubensaft in 239 Tagen von 66° Öchsle bis auf 35° (Herrliberg) bzw. 32° (Erlenbach) und 30° (Neftenbach).

Die alkoholische Gärung ist an das Vorhandensein der Zymase gebunden; die Zymase aber, ein Produkt, das in der Hefe gebildet wird, nimmt mit der Zahl der Hefen zu und damit auch die Intensität der alkoholischen Gärung. Halten wir diese beiden Vorgänge, die Vermehrung der Hefe und den eigentlichen Gärprozeß auseinander,

so wird aus der einen Frage über den Einfluß tiefer Temperaturen auf die Gärung eine Doppelfrage: Wie wird einerseits die Hefevermehrung, das Hefewachstum, und anderseits die Zymasetätigkeit, die eigentliche Gärtätigkeit, durch kältere Temperaturen beeinflußt? Daß das Hefewachstum durch kühlere Temperaturen gehemmt und bis zu einer gewissen oberen Wärmegrenze gefördert wird, bedarf wohl keiner weiteren Beweise mehr. Dagegen mag der anderen Frage noch einige Aufmerksamkeit zugewendet werden.

Das Verhalten der Kaltgärhefen, wie z. B. von Wädenswil-Schloß$_3$, die bei 4 und 0° noch gären, spricht dafür, daß die Hefen bei diesen Temperaturen nicht nur zu wachsen, sondern auch den Zucker durch die Zymase zu zersetzen vermögen. Zwei Gärversuche bei einer zunächst höheren Temperatur — so lange, bis genügend Hefen sich vermehrt hatten — und darauf folgender tiefer Temperatur, zeigen aber anderseits, daß nicht nur das Hefewachstum, sondern auch die eigentliche Gärtätigkeit durch die niederen Temperaturen mehr oder weniger gehemmt wird. Beide Versuche sind mit einem sauren Traubensaft von 43° Öchsle durchgeführt worden, den man in ½-l-Flaschen abfüllte, sterilisierte und mit Reinhefe, die einen mit der Kaltgärhefe Herrliberg, die anderen mit der kälteempfindlichen Steinberg 1917, impfte. Je 2 Flaschen mit derselben Hefe kamen während der Versuchsdauer bei 16° zu stehen, je 2 weitere zunächst 5 Tage lang, während deren sich die Hefen reichlich vermehrten, ebenfalls bei 16°, hernach bei 5° und je 2 Flaschen mit der gleichen Hefe wurden die ganze Zeit hindurch bei 5° aufbewahrt. Die Gewichtsabnahmen in Gramm je Liter sind in Tab. 13 aufgeführt.

Tabelle 13. Kohlensäureabgabe in g je l.

Nach Tagen	Steinberg 1917			Herrliberg		
	16°	16° und 5°	5°	16°	16° und 5°	5°
		16°			16°	
5	9,5	10,4	0	20,0	20,7	0
		5°			5°	
12	32,5	16,6 (35,5) —18,9	0	33,1	23,9 (34,2) —10,3	0,7
20	36,1	21,3 (39,5) —18,2	0	36,4	28,1 (37,6) — 9,5	12,1
31	37,4	25,5 (40,9) —15,4	0	37,2	31,4 (38,5) — 7,1	22,6
38	37,7	27,8 (41,2) —13,4	0,3	37,4	32,9 (38,7) — 5,8	26,3
47	38,0	29,4 (41,6) —12,2	1,1	37,5	33,9 (38,8) — 4,9	30,0
57	38,2	30,5 (41,8) —11,3	2,3	37,7	34,5 (39,0) — 4,5	32,1
70	38,4	31,5 (42,0) —10,5	3,5	37,8	34,8 (39,1) — 4,3	33,3
85	38,8	33,8 (42,4) — 8,6	7,4	38,1	35,6 (39,4) — 3,8	35,0
	3½° Ö.	4° Ö.	31½° Ö.	3¼° Ö.	2¼° Ö.	2¾° Ö.

Was zunächst das Verhalten der Kaltgärhefe anbetrifft, so muß sich Herrliberg bei 16° in den ersten 5 Tagen reichlich vermehrt haben, denn die Kohlensäureabgabe war in dieser Zeit eine ausgiebige. Vergleichen wir nun die Kohlensäureverluste der stets bei 16° aufbewahrten Flasche mit jenen der nach 5 Tagen kühlgestellten, so fallen nennenswerte Differenzen auf. Nach 12 Tagen hatte die bei 16° aufbewahrte Flasche um 33,1 g abgenommen, die zunächst warm-, später kühlgestellte Flasche dagegen nur

um 23,9 g; nach 20 Tagen erreichten die Gewichtsabnahmen beider Flaschen 36,4 bzw. 28,1 g usf. Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die mutmaßlichen Gewichtsverluste der Flasche, wenn sie weiter bei einer Temperatur von 16° gelagert worden wäre, errechnet auf Grund der Abnahmen der stets bei 16° aufbewahrten Flasche; die Zahlen rechts geben die Differenzen an zwischen der mutmaßlichen Gewichtsabnahme bei fortdauernder Lagerung bei 16° und dem Gewichtsverlust des ursprünglich warm und nachher kühl aufbewahrten Weines, sie stellen also die Gärhemmung dar. Die Gärtätigkeit in der nachträglich kühl aufbewahrten Flasche erreichte nicht mehr die Stärke wie in den stets bei 16° verbliebenen Säften, sondern erfuhr eine deutliche Hemmung, die sich besonders in der Zeit kurz nach dem Temperaturwechsel äußerte. Bei 16° hatte der Wein nach 31 Tagen ein ungefähres Mostgewicht von 4° Öchsle, war demnach fast vergoren, während der zuerst bei 16° und später bei 5° gelagerte Wein erst nach ca. 47 Tagen diesen Vergärungsgrad erreichte, obwohl die Gewichtsabnahme dieser Probe zu diesem Zeitpunkt ca. 3—4 g hinter der des bei 16° vergorenen Weines zurückblieb, was zum Teil damit zusammenhängen wird, daß in der kühler gestandenen Probe die Kohlensäure stärker gelöst blieb und weniger rasch aus der Flasche entwich als im wärmer gehaltenen Wein. Anderseits war in dem kühl gestandenen Wein die Weinsteinausscheidung eine reichlichere und darum auch das Mostgewicht geringer. Ebenfalls ihrem Ende entgegen ging nach 47 Tagen die Gärung in dem stets bei 5° gelagerten Wein, in dem sie anfangs der langsameren Hefevermehrung wegen 2 Wochen lang nicht in Gang kommen wollte, mit der stetig anschwellenden Zahl von Hefen von der 3. Woche an dann aber rasch zunahm.

Interessanter im Hinblick auf unsere Fragestellung ist der Versuch mit der kälteempfindlichen Hefe Steinberg, in derselben Weise und gleichzeitig mit dem eben geschilderten Versuch mit Herrliberg durchgeführt. Die Kohlensäureabgabe in den ersten 5 Tagen war nicht so groß, die Gärung nicht so energisch wie in den mit Herrliberg geimpften Weinen. Trotzdem wird auch bei Steinberg das Hefewachstum in dieser Zeit größtenteils vor sich gegangen sein und darf das Nachlassen der Gärtätigkeit in den nach 5 Tagen kühlgestellten Flaschen wohl ganz als eine Hemmung der eigentlichen Gär- oder Zymasetätigkeit durch die 5° aufgefaßt und nicht etwa einer verminderten Hefevermehrung bei 5° zugeschrieben werden. Nach ca. 31 Tagen war der bei 16° gelagerte Traubensaft fast ganz vergoren, während in den zunächst bei 16° und hierauf bei 5° aufbewahrten Flaschen noch bis zum 70. Tage und später deutliche Gewichtsabnahmen stattfanden, die Gärung noch bis zu dieser Zeit andauerte. Auch hier entsprechen die Zahlen in den Klammern den Gewichtsabnahmen, wie sie bei ununterbrochener Lagerung bei 16° sich etwa hätten einstellen müssen. Die Differenzen zwischen den durch Wägungen ermittelten Abnahmen bei 5° und den bei 16° errechneten, in Klammern eingeschlossenen, ergeben die Hemmungen infolge kühlerer Lagerung: 18,9 g, 18,2 g usw. gegenüber 10,3 g, 9,5 g und 7,1 g usw. bei dem entsprechenden anfänglich warm- und später kühlgestellten Weine mit der Hefe Herrliberg. Da Steinberg zu den kälteempfindlichen Hefen gehört, bei 5° während eines ganzen Monats sich nur äußerst langsam vermehrte und in dieser Zeit gar keine Kohlensäure abgab, so beziehen sich die Zahlen sozusagen fast nur auf die Gärtätigkeit der bei 16° entstandenen Hefen und nicht etwa noch auf eine nennenswerte Mitwirkung bei 5° neu ent-

standener Hefen. Die Gär- oder Zymasetätigkeit von Steinberg ist also durch die nachträgliche Kühllagerung viel weniger gehemmt worden als das Wachstum und die Vermehrung der Hefe bei 5°, eine Erscheinung, auf die auch K. Krömer und G. Krumbholz[1]) in ihrer Mitteilung über das Verhalten der Weinhefen bei tiefen Gärtemperaturen aufmerksam machen. Diese Hemmung mußte aber größer sein als bei der Hefe Herrliberg, wo die Differenzen zwischen den Gewichtsverlusten der nachträglich kühlgestellten und den einer unveränderten Temperatur von 16° ausgesetzten Flaschen bedeutend kleiner waren. Nun hat sich Herrliberg auch bei 5° reichlich vermehrt, so daß man einwenden könnte, die größeren Gewichtsverluste der bei ursprünglich 16°, später 5° gelagerten Weine rührten nicht nur von den bei 16° entstandenen, sondern auch noch von den bei 5° neu gebildeten Hefen her. Da aber das Hefewachstum nur in der ersten Zeit, solange noch nicht viel Alkohol da ist, vor sich geht, und der Wein mit Herrliberg in den ersten 5 Tagen bei 16° schon stark in Gärung kam, so darf man wohl auch die Gewichtsverluste des nachträglich kühl gelagerten Weines mit Herrliberg zum größten Teil den bei 16° entstandenen Hefen zuschreiben. Ist nun aber die Hefe Steinberg in ihrer Gärtätigkeit durch die tieferen Temperaturen mehr als Herrliberg gehemmt worden, dann muß auch die Zymase von Steinberg kälteempfindlicher sein als die der Hefe Herrliberg, was insofern bemerkenswert ist, als die Zymase oder Alkoholase ein Ferment und nicht ein lebender Organismus ist und man zum Schluß gedrängt wird, daß die Zymasen der verschiedenen Hefearten und Rassen an und für sich nicht etwa nur in quantitativer Hinsicht nicht gleichwertig sind, sondern sich mehr oder weniger auch in ihrer qualitativen Beschaffenheit voneinander unterscheiden.

Von Interesse und praktischer Bedeutung ist die Tatsache, die klar aus unseren Untersuchungen erhellt, daß, wenn auch die Hefen durch tiefe Temperaturen im Wachstum gehemmt werden, ihre Gär- oder Alkoholasetätigkeit viel weniger darunter leidet. Es ist also selbst mit kälteempfindlichen Hefen, z. B. mit der sonst gärkräftigen Steinberg 1917 möglich, bei 5° Säfte durchzugären, sofern anfangs genügend Hefen vorhanden sind. Die Bereitung von viel Anstellhefe ist in solchen Fällen von größter Bedeutung, aber heute, wo bald in jedem Haus Süßmost hergestellt wird, keineswegs eine umständliche Sache. Natürlich wird man aber dort, wo man sich auf einen Temperatursturz im Keller gefaßt machen muß, der Kaltgärhefe den Vorzug geben und auch von dieser möglichst viel Anstellhefe züchten, sofern man die Gärung stark fördern will. Wir befinden uns auch in dieser Hinsicht mit K. Krömer und G. Krumbholz in Übereinstimmung, die dafür halten, daß nur dann mit einem Erfolg bei der Kaltgärung zu rechnen sei, wenn die Moste mit größeren Mengen von Hefe angestellt werden als bei der üblichen Art der Vergärung.

Nachdem aus den bisher mitgeteilten Versuchen mit aller Deutlichkeit hervorgeht, daß die verschiedenen Gärhefearten und -rassen gegenüber tieferen Temperaturen sich recht verschieden verhalten, ist die Frage nicht ganz überflüssig, ob die sog. Kaltgärhefen etwa auch noch in anderer Hinsicht von den kälteempfindlichen

[1]) K. Krömer und G. Krumbholz, Über das Verhalten der Weinhefen bei tieferen Temperaturen. (Wein und Rebe. Jahrg. 10. H. 12.)

Hefen sich unterscheiden und als anders geartete Gärhefen aufzufassen sind. Wir suchten an Hand eines Beispiels diese Frage zu beantworten, indem wir die zuerst reingezüchtete typische Kaltgärhefe Wädenswil-Schloß$_3$ eingehend auf ihre morphologischen und physiologischen Eigenschaften untersuchten. Im folgenden sollen die wichtigsten Ergebnisse dieses Studiums mitgeteilt werden.

A. Morphologisches.

1. Bodensatz und Flockenbildung.

Im Traubensaft vermehrt sich Wädenswil-Schloß$_3$ als elliptische Hefe von ziemlich regelmäßiger Form, wobei einzelne Hefezellen mehr rundelliptisch aussehen (Abb. 1). Die Hefen sind verschieden groß, häufig ca. 8,2 μ lang und ca. 5,3 μ dick, die ganz kleinen mehr eiförmigen ca. 4,1 μ, lang und 2 μ dick an der breitesten Stelle; kugelig-elliptische Hefen haben wir gemessen von 8,2 μ Länge und 7,4 μ Dicke.

Wesentlich anders gestaltet sich das Wachstum im sterilen Wasserbirnsaft, wo schon wenige Tage nach der Aussaat unter den jungen Hefen schmal-elliptische und walzenförmige auffallen, die auch bedeutend länger als die elliptischen Hefen sind. Obwohl in Reinkultur sehen die Hefen in diesem Birnsaft doch sehr verschieden aus. Von den kleinsten eiförmigen Zellen von 4,1 μ Länge und 2,8 μ Breite an der dicksten Stelle variieren sie bis zu den langen pastorianen walzenförmigen Hefen von ca. 24,6 μ Länge und 3,2—4,1 μ Dicke. Immerhin sind diese letzteren in der Minderheit gegenüber den vielen Hefen von elliptischer Gestalt.

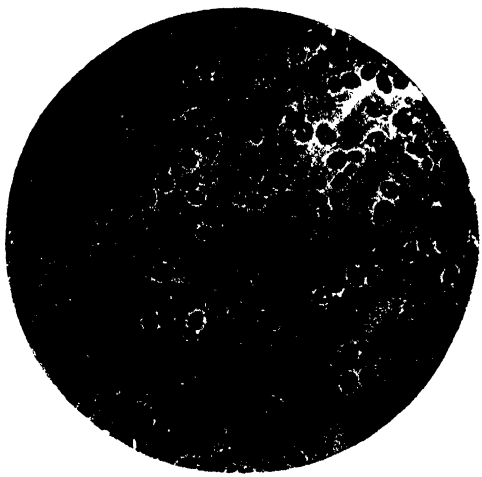


Abb. 1. Wädenswil-Schloß$_3$ in Räuschling-Traubensaft; 4 Tage alte Kultur. Vergr. ca. 350 : 1; phot. Dr. R. Wiesmann.

Wädenswil-Schloß$_3$ hat also die Fähigkeit, pastoriane Hefen zu bilden. Hefen solcher Art erzeugen in den Strichkulturen keine glatten, sondern gefranste Ränder und wachsen auch in den Kulturflüssigkeiten, z. B. im Trauben- oder Wasserbirnsaft, wenn die Flaschen mit Watte verschlossen sind und die Luft ins Innere eindringen kann, zu Flocken auf dem Depot der Gärhefen, dem sog. Bodensatz, aus, wie wir solche schon bei früheren Untersuchungen über Hefen beschrieben haben. Nach der Gärung sprossen weißliche zarte Flöckchen aus dem Bodensatz, dem Hefedepot, hervor, die sich immer mehr vergrößern und bis ca. ½ cm hoch werden. Die Flocken wachsen aufwärts, sind strähnenartig, zu kleineren Gruppen vereinigt, die in ihrem Habitus an die bekannten Carex-Stöcke oder Büsche in unseren Sumpfrieden erinnern. Außerdem setzt sich am Oberflächenrande des von der Hefe vergorenen Weines ein weißer Hefering an. Dagegen tritt auch beim längeren Stehenlassen an der Oberfläche keine

kahmhautähnliche Vegetation auf, wie dies sonst bei manchen Hefen der Fall ist.

Unter dem Mikroskop entpuppen sich diese Flocken als bäumchenartige Gebilde aus langen pastorianen Hefen und meist seitlich davon abzweigenden mittellangen und elliptischen Zellen. In der gleichen Kultur kommen dünnere und dickere walzen- und schwach keulenförmige pastoriane Hefen vor, wovon die längsten schmalen Zellen 28,7 μ und 2 μ breit sind; in einzelnen derselben fielen auch Sporen auf. Die dickeren pastorianen Hefen können bis 41 μ lang werden bei einer Dicke von ca. 3—4 μ, während die vielen elliptischen Hefen daneben in der Länge 6—8 μ und die kleinen bis ca. 4,1 μ maßen. Häufig sind auch größere kugelige Hefen mit 6,5—8,2 μ Durchmesser. Alle diese Hefen in den Flockenschichten sind größtenteils lebend im Gegensatz zu den ursprünglichen Gärhefen im Bodensatz, die meistens schon früh absterben.

2. Sporenbildung.

Die Vorbedingungen für die Sporenbildung waren möglichst günstig, indem wir die Hefe im Verlauf von 14 Tagen wiederholt in Traubensaft umimpften, auffrischten und schließlich den Wein von der Hefe abgossen, um ihn durch sterilen unvergorenen Traubensaft zu ersetzen. 24 Std. (bei 25°) später ist dann das Hefedepot von diesem kaum in Gärung übergegangenen Traubensaft getrennt und in kleineren Portionen auf wiederholt bei 100° sterilisierte Gipsblöckchen gebracht worden, um die Hefen im Panum schen Thermostaten bei 33, 29, 25, 21, 17, 13, 9 und 5° auf den Eintritt und die Fähigkeit der Sporenbildung zu prüfen.

5 Tage nach dem Aufbringen der Hefe auf die Gipsblöckchen machten sich bei 33° noch keine Anzeichen der Sporenbildung bemerkbar und ebenso nicht bei 5°, während bei den übrigen Temperaturen mehr oder weniger sporenhaltige Hefezellen vorkamen, und zwar bei

29°	ca.	1%	der	Hefen	mit	meist	3	Sporen
25°	„	1%	„	„	„	„	2	„
21°	„	10%	„	„	„	„	4	„
17°	„	10%	„	„	„	„	2—4	„
13°	„	10—20%	„	„	„	„	3 u. 4	„
9°	„	5—10%	„	„	„	„	4	„

Auch nach 11 Tagen waren die Hefezellen bei 33° noch ohne Sporen, wogegen unter den Hefen bei 5° vereinzelte sporenhaltige Hefen sich finden ließen.

Bei einem zweiten, gleich durchgeführten Versuch zeichneten sich die Hefen durchweg durch eine größere Neigung zur Sporenbildung aus. Bis zum 7. und 15. Tag schätzten wir bei 29° von den auf die Gipsblöckchen verbrachten Hefen ca. 5% sporenhaltige Hefen, bei 25° ca. 20%, bei 21° nach 7 Tagen 20%, nach 15 Tagen 30%, bei 17° nach 7 Tagen 20%, nach 15 Tagen 40%, bei 13° = 40—50%, bei 9° = ca. 20%, bei 5° nach 7 Tagen vereinzelte Hefen mit Sporen, bis zum 15. Tag ca. 20%. Das Optimum der Sporenbildung liegt demnach bei ungefähr 13°; besondere Erwähnung verdient die Tatsache, daß selbst bei 5° noch verhältnismäßig viel Hefezellen zur Sporenbildung schritten. Die Sporen sind kugelig, hyalin, erscheinen gut ernährt hautlos, im leeren Zustand dagegen von einer deutlichen Haut umgeben; im Innern fällt oft gegen den Rand hin ein hellglänzendes Körperchen auf. Durchmesser der Sporen 2,2—2,6 μ.

Nach der Fähigkeit, Sporen zu bilden, gehört Wädenswil-Schloß$_3$ zur Gattung Saccharomyces.

3. Strichkulturen und Riesenkolonien.

Zur Anlage beider verwendeten wir 15proz. Gelatine mit 7% unvergorenem Traubensaft als Nährlösung.

Die Strichkulturen sind nach 35 Tagen, während welcher Zeit sie bei Zimmertemperatur lagerten, photographiert worden. Wie die Abbildung 2 erkennen läßt, laufen die seitlichen Ränder der Striche in flacher Böschung in einen feingefransten Rand aus mit langen walzenförmigen Hefen, die mit elliptischen Hefen zusammen bäumchenartige Verbände bilden. Die Oberfläche der Kultur war glatt und naßglänzend, der Länge nach rinnenförmig vertieft, während auf der gelatinewärts gerichteten Unterseite des Striches die Hefezellen in bäumchenartigen Verbänden in die Gelatine hineinwachsen und der Kultur auf dieser Seite ein bürstenartiges Aussehen verliehen. Obwohl stets bei Zimmertemperatur im Dunkel aufbewahrt, verflüssigte die Gelatine der Strichkulturen nicht, auch nach 129 Tagen nicht, sondern blieb fest. Deren Hefen waren elliptisch bis pastorian, d. h. schwach keulenförmig, die kleinsten elliptischen Hefen ca. 3,2 μ lang und 2,6 μ breit, große elliptische Zellen 7,8 μ lang und 5,2 μ breit, zwischen welchen beiden Extremen alle Übergänge vorkamen, die kleineren Hefen die längeren an Zahl überwiegend. Auch unter den pastorianen, den walzen- und keulenförmigen Hefen, herrschte eine große Mannigfaltigkeit hinsichtlich der Größe; kürzere pastoriane Hefen maßen z. B. 18,6 μ in der Länge und waren am schmaleren Ende 2,6 μ breit, am dickeren 4,6 μ, die größten walzen- und keulenförmigen, nicht selten mehr oder weniger sichelartig gebogenen Zellen 30,5 μ lang, aber nur 2,6—3 μ breit. Wie schon erwähnt, bestehen die gefransten Längsränder der Strichkulturen größtenteils aus solchen pastorianen Formen. Wie dies nicht selten in Strichkulturen der Fall ist, so entstanden auch in manchen Hefen von Wädenswil-Schloß$_3$, besonders den pastorianen, Sporen, meist deren 3—4.

Abb. 2. Strichkultur von Wädenswil-Schloß$_3$ auf 15proz. Gelatine + 7% Traubensaft. 35 Tage alte Kultur; natürliche Größe. Phot. H. Haller.

Die Riesenkolonien von Wädenswil-Schloß$_3$, ebenfalls auf 15proz. Gelatine mit 7% Traubensaft angelegt und nach 42 Tagen photographiert, waren zu dieser Zeit rund, 16½ mm breit, flach, d. h. nur wenig über der Gelatine erhaben, in der Mitte etwas eingesunken, naßglänzend, nach außen hin in ein ca. 4 mm breites gürtelartiges, in viele kleinere ungleiche sektorenartige Abschnitte zerfallendes Band übergehend (Abb. 3). Im zentralen, etwas eingesunkenen Teil der Riesenkolonie fällt eine ca. 2 mm breite seichte, kraterähnliche Vertiefung auf. Nach unten, in die Gelatine hinein, ist die Kolonie ca. 5 mm tief gewachsen. Später verflüssigte die zentrale Partie der Riesenkolonien, wurde z. B. bei 59 Tage alten, ca. 2 cm breiten Kulturen

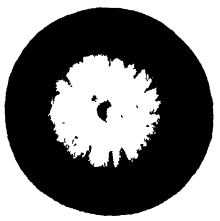


Abb. 3. Riesenkolonie von Wädenswil-Schloß$_3$ auf 15proz. Gelatine + 7% Traubensaft. 42 Tage alte Kultur; natürliche Größe. Phot. H. Haller.

zu einer ca. 1 cm breiten und 1—2 mm tiefen naßglänzenden Mulde, während der feinfaserige Randgürtel sich in seinem Aussehen nicht mehr stark änderte, mit Ausnahme einzelner Sektoren, die vom mehr oder weniger kreisförmigen Rande aus zungenförmig hervorwucherten. 129 Tage alte Riesenkolonien waren ca. 1½ cm tief in die Gelatine eingesunken, die sie unterhalb der Kolonie, nicht aber seitlich derselben verflüssigten. Wie in den Strichkulturen kamen in den faserigen Randpartien neben ca. 3,3—8 μ langen elliptischen Hefen viele lange, gerade oder gebogene, walzen- und keulenförmige Zellen vor, schmalere pastoriane Hefen ca. 24 μ lang und 2,6 μ breit und breitere pastoriane Formen ca. 26,6 μ lang und 4,2 μ breit. In der zentralen Partie der Riesenkolonien überwogen die elliptischen Hefen, neben denen alle Übergänge von elliptischen zu pastorianen vorkamen. Abweichend von den Hefen in den Strichkulturen, in denen Sporen nicht zu den Seltenheiten gehörten, ließen sich solche in den Riesenkolonien auffälligerweise nicht nachweisen.

B. Physiologisches.

1. Verhalten von Wädenswil-Schloß$_3$ gegenüber verschiedenen Zuckerarten und Dextrin.

Zu diesen Untersuchungen benutzten wir einen mit Weinsäure bis zu 1,2‰ angesäuerten, in üblicher Weise durch Aufkochen von 1 kg Preßhefe in 10 l Wasser hergestellten Hefeauszug, dem wir die verschiedenen Zuckerarten einzeln zusetzten, die Hexosen Dextrose, Lävulose und Galaktose, die Disaccharide Saccharose, Milchzucker und Maltose, das Trisaccharid Raffinose, ferner Dextrin, jeweils ca. 4% von jeder Substanz.

Um einer Zersetzung der Disaccharide und der Raffinose bei der Sterilisation dieser Verbindungen mit dem angesäuerten Hefeauszug vorzubeugen, lösten wir sie und das Dextrin in etwas Wasser auf, sterilisierten die wässerige Lösung, um sie dann nachher dem sterilen Hefeauszug kalt zuzusetzen. Die Hexosen wurden dagegen direkt dem Hefeauszug zugefügt und mit diesem zusammen sterilisiert. Die verschiedenen Hefeauszug-Zuckerlösungen, in kleinere Flaschen zu je 100 ccm abgefüllt, mit einem Gärverschluß versehen, bewahrten wir bei Zimmertemperatur auf.

Wie schon die Kohlensäure-Entwicklung in den verschiedenen Flaschen verriet, haben die Hexosen Lävulose, Dextrose, Galaktose, ferner die Saccharose und Maltose, sowie die Raffinose gegoren, wogegen in den Lösungen mit Milchzucker und Dextrin keine Gärung sich bemerkbar machte. Auch die chemische Untersuchung speziell auf Alkohol, Gesamtsäure und Essigsäure ca. 4 Monate später hat ergeben, daß Wädenswil-Schloß$_3$ die Hexosen Lävulose, Dextrose und Galaktose, die Disaccharide Saccharose und Maltose, ferner das Trisaccharid Raffinose vergor, nicht aber den Milchzucker und das Dextrin. Besondere Erwähnung verdient das Verhalten von Wädenswil-Schloß$_3$ der Raffinose gegenüber, einer aus d-Fruktose, d-Glukose und d-Galaktose zusammengesetzten Zuckerart. Durch verdünnte Säuren oder das Enzym Raffinase wird die Raffinose zunächst in d-Fruktose und Melibiose gespalten und diese letztere durch das Enzym Melibiase in d-Glukose und d-Galaktose weiter zerlegt. Nun gibt es Hefen, wie z. B. die von uns beschriebene Ay (Saccharomyces oviformis) und Hutzenwil (Saccharomyces tubiformis), die die Raffinose in d-Fruktose und Melibiose spalten, die erstere vergären, aber mangels

Melibiase die Melibiose nicht weiter angreifen, was dann in zu geringen Alkoholmengen sich äußert. Nach der Entstehung von 1,7 Gewichts-% Alkohol aus ca. 4% Raffinose zu urteilen, hat Wädenswil-Schloß$_3$ die Raffinose ganz vergoren, also in alle 3 Zuckerarten zerlegt und enthält demnach das Enzym Melibiase.

Über die bei dieser Gärung in den verschiedenen Zuckerlösungen stattgefundene Alkoholbildung und nur geringen Änderungen im Gesamtsäure- und Essigsäuregehalt enthält Tabelle 14 nähere Angaben.

Tabelle 14.

	Alkohol g im l	Gesamtsäure als Weinsäure g im l	Flüchtige Saure als Essigsäure g im l
Ohne Zusatz:			
Hefeauszug, steril	0,6	1,2	0,2
Hefeauszug, mit Wädenswil-Schloß$_3$.	2,0	1,2	0,1
Mit 4% Lävulose:			
Hefeauszug + Lävulose, steril . . .	0,7	1,2	0,1
Hefeauszug + Lävulose, m. Wädenswil	20,6	1,6	0,1
Mit 4% Dextrose:			
Hefeauszug + Dextrose, steril . . .	0,9	1,2	0,2
Hefeauszug + Dextrose, m. Wadensw.	19,4	1,6	0,1
Mit 4% Galaktose:			
Hefeauszug + Galaktose, steril . . .	0,6	1,2	0,1
Hefeauszug + Galaktose, m. Wädensw.	19,0	1,6	0,1
Mit 4% Saccharose:			
Hefeauszug + Saccharose, steril . .	0,6	1,1	0,2
Hefeausz. + Saccharose, m. Wädensw.	20,6	1,3	0,1
Mit 4% Milchzucker:			
Hefeauszug + Milchzucker, steril	0,7	1,2	0,2
Hefeausz. + Milchzucker, m. Wädensw.	1,7	1,3	0,1
Mit 4% Maltose:			
Hefeauszug + Maltose, steril . . .	0,6	1,2	0,1
Hefeauszug + Maltose, mit Wädenswil	17,0	1,3	0,1
Mit 4% Raffinose:			
Hefeauszug + Raffinose, steril . . .	0,8	1,2	0,2
Hefeauszug + Raffinose, m. Wädensw.	17,0	1,4	0,1
Mit 4% Dextrin:			
Hefeauszug + Dextrin, steril . . .	0,6	1,2	0,1
Hefeauszug + Dextrin, m. Wädenswil	2,1	1,4	0,1

2. Wädenswil-Schloß$_3$ gegenüber verschiedenen organischen Säuren.

Die verschiedenen organischen Säuren, wie Essigsäure, Weinsäure, Milchsäure vom spez. Gewicht 1,21, Zitronen- und Bernsteinsäure (alle Präparate von Kahlbaum, ferner Äpfelsäure von Merck bezogen) waren in Hefeauszug gelöst, die Lösungen in Fläschchen zu 100 ccm abgefüllt, sterilisiert und nachher mit frischer Hefe geimpft worden. Um den Einfluß des Hefeauszuges auf die Umsetzungen beurteilen zu können, machten wir von derselben Hefekultur auch Aussaaten in Fläschchen mit Hefeauszug ohne Säurezusatz. Alle diese mit Wattestopfen verschlossenen Fläschchen mit oder ohne Säure bewahrten wir neben den dazugehörigen sterilen, gleich verschlossenen Proben bei einer Tempe-

ratur von ca. 16° auf, so daß nach der gleichzeitigen Untersuchung der verschieden behandelten Flüssigkeiten das Verhalten der Hefe zu den betreffenden Säuren leicht zu beurteilen war. Nach 4½ Monaten wurde die eine Serie der stets doppelt angelegten Kulturen auf Gesamtsäure und flüchtige Säure untersucht, da allfällige Angriffe und Zersetzungen von seiten der Hefe doch in erster Linie in Veränderungen der Säuregehalte sich äußern. Die Ergebnisse dieser Bestimmungen sind in Tabelle 15 zusammengestellt.

Tabelle 15.

	Gesamtsäure g im l	Flüchtige Säure als Essigsäure g im l
Ohne Zusatz:	als Äpfelsäure	
Hefeauszug, steril	neutral	0,1
Hefeauszug, mit Wädenswil-Schloß, .	0,1	0,1
Mit ca. 4‰ Essigsäure:	als Essigsäure	
Hefeauszug + Essigsäure, steril . . .	4.2	4,4
Hefeauszug + Essigsäure, m. Wädensw.	2,7	3,0
Mit ca. 7‰ Äpfelsäure:	als Äpfelsäure	
Hefeauszug + Äpfelsäure, steril . . .	7.3	0,1
Hefeauszug + Äpfelsäure, m. Wädensw.	5,9	0,1
Mit ca. 4‰ Weinsäure:	als Weinsäure	
Hefeauszug + Weinsäure, steril . . .	4,0	0,1
Hefeauszug + Weinsäure, m. Wädensw.	3,7	0,1
Mit ca. 6‰ Milchsäure:	als Milchsäure	
Hefeauszug + Milchsäure, steril . . .	6.3	0,2
Hefeauszug + Milchsäure, m. Wädensw.	3,1	0,1
Mit ca. 7‰ Bernsteinsäure:	als Bernsteinsäure	
Hefeauszug + Bernsteinsäure, steril .	7.2	0,1
Hefeausz. + Bernsteins., m. Wädensw.	6,2	0,1
Mit ca. 5‰ Zitronensäure:	als Zitronensäure	
Hefeauszug + Zitronensäure, steril .	5,2	0,1
Hefeausz. + Zitronens., m. Wädensw.	5,1	0,1

Fast gar nicht haben sich die Weinsäure und Zitronensäure verändert; etwas abgenommen (um 1,4—1,5‰) haben die Äpfelsäure und Essigsäure, ferner um 1‰ die Bernsteinsäure. Am meisten von allen ist die Milchsäure von der Hefe angegriffen worden, ohne daß aber damit etwa Veränderungen im Gehalt der flüchtigen Säure verbunden gewesen wären. Wo die Äpfelsäure von 7,3‰ auf 5,9‰ zurückging, hat nicht etwa die Milchsäure zugenommen; im Hefeauszug mit Äpfelsäure und Hefe hat sich wie in der sterilen Kontrollprobe der ursprüngliche Milchsäuregehalt nicht verändert. Der Hefetrub in all diesen Flaschen bot denselben Anblick von ellipfischen und pastorianen, oft noch zu bäumchenartigen Verbänden vereinigten Hefen.

3. Tötungstemperatur.

Die Versuche führten wir in gleicher Weise wie die mit den früher beschriebenen Gärhefen[1]) durch, d. h. mit verdünntem Räuschling-Traubensaft von 27° Öchsle in 60-ccm-Fläschchen, die nach der Aussaat der Hefe im

[1]) A. Osterwalder, Neue aus Obst- und Traubensäften gewonnene Saccharomyces-Arten. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 60. 1924.)

Verlauf von ¼ Std. auf die gewollte Temperatur erwärmt und hierauf dann sofort bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden. Nach wiederholten Versuchen mit junger Hefe aus einer 9tägigen Kultur im Traubensaft, 8 Tropfen der gemischten Flüssigkeit je Fläschchen, hat der auf 55° erwärmte Saft in einem Fall später gegoren, in einem anderen Fall dagegen nicht. Junge Hefen werden demnach durch Erwärmen auf ca. 55° C abgetötet, während von einer älteren, ca. 5 Monate alten Hefekultur, von der man ebenfalls je 8 Tropfen gemischten Weines in die Versuchsfläschchen aussäte, einzelne Hefen auch noch 56° ertrugen; die Tötungstemperatur älterer Hefe liegt bei ca. 57°.

Vergleichen wir Wädenswil-Schloß$_3$ mit bisher beschriebenen Gärhefen, Saccharomyces-Arten und -Rassen, so besteht zwischen Saccharomyces intermedius Hansen und unserer Hefe große Verwandtschaft, namentlich in den physiologischen Eigenschaften. Beide vergären Lävulose, Dextrose, Galaktose, Saccharose und Maltose. Auch die Raffinose ist von Wädenswil-Schloß$_3$ ganz zersetzt worden wie seinerzeit von der uns im Jahre 1914 von Prof. Klöcker am Carlsberg-Laboratorium in Kopenhagen zu wissenschaftlichen Untersuchungen überlassenen Saccharomyces intermedius, von der allerdings Stelling-Dekker[1]) zu berichten weiß, daß diese Hefe die Raffinose nicht vollständig vergäre, sondern nur die davon abgespaltene d-Fruktose. Milchzucker und Dextrin gegenüber verhalten sich beide Hefen ablehnend. Im Verhalten zu den verschiedenen organischen Säuren ergibt sich zwischen beiden ebenfalls ziemlich weitgehende Übereinstimmung, indem die Milchsäure von Wädenswil-Schloß$_3$ wie von Saccharomyces intermedius leicht assimiliert wird, während Essigsäure, Äpfelsäure und Bernsteinsäure ebenfalls, doch in etwas geringerem Maße, die Wein- und Zitronensäure dagegen gar nicht oder fast gar nicht angegriffen werden. Größere Unterschiede zwischen beiden treten hinsichtlich Größe und Form der Hefezellen, der Neigung zur Sporenbildung, sowie auch im Aussehen der Strichkulturen und Riesenkolonien hervor. Beide besitzen die Fähigkeit zur Sporenbildung, Wädenswil-Schloß$_3$ in höherem Grade, was mit dem jüngeren Alter dieser Hefe zusammenhängen kann. Wie Wädenswil-Schloß$_3$ neigt auch Saccharomyces intermedius zur Bildung längerer, sog. pastorianer Hefezellen, weshalb die Hefe früher ja auch von Hansen Saccharomyces Pastorianus II benannt worden war. Das alles weist auf eine nahe Verwandtschaft beider Hefen hin, so daß wir Wädenswil-Schloß$_3$ als eine Varietät von Saccharomyces intermedius auffassen müssen, die wir Saccharomyces intermedius var. turicensis nennen, es ist also eine nahe Verwandte zu der von uns beschriebenen, aus einem Fendant der Waadt stammenden Weinhefe Chardonnay 3, die wir als Saccharomyces intermedius var. valdensis bezeichneten.

Zusammenfassung.

1. Häufig wird die Gärung der Obstsäfte in unseren kleinbäuerlichen Betrieben durch zu tiefe Kellertemperaturen gehemmt, indem die Gärhefen, von deren Zahl die Stärke der Gärung abhängt, dann nicht oder nur lang-

[1]) N. M. Stelling-Dekker, Die Hefesammlung des „Centraalbureau voor Schimmelcultures". Beiträge zu einer Monographie der Hefearten. I. Teil: Die sporogenen Hefen. Amsterdam 1931.

sam zu wachsen und sich zu vermehren vermögen. Am raschesten vermehren sich und gären die Hefen um 25° C herum; je weiter sich die Temperaturen von diesem Optimum entfernen, um so mehr werden sie im Wachstum und der Gärtätigkeit gehemmt.

2. Es verhalten sich nicht alle Heferassen und -arten gleich gegenüber tieferen Temperaturen, wie die Prüfung einer größeren Zahl aus Obst- und Traubenweinen von uns rein gezüchteter Hefen ergab. Als weniger empfindliche, sog. Kaltgärhefen, erwiesen sich die aus einem Theilersbirnwein stammende Wädenswil-Schloß$_3$, ferner die aus Weißweinen der Zürichseegegend gezüchteten Herrliberg, Erlenbach und Uerikon und aus Rotweinen isolierten Hallau$_a$, Neftenbach$_b$, Rosenberg-Berneck, während z. B. die gärkräftigen Hefen Steinberg 1917, Aßmannshausen$_5$, Sp$_2$ usw. bei kälteren Temperaturen gar nicht oder nur äußerst langsam sich vermehrten und gärten.

3. In der Regel prüften wir die Hefen bei ca. 5° C auf ihre Kälteempfindlichkeit, bei welcher Temperatur die erwähnten Kaltgärhefen, wenn auch nicht rasch, so doch stetig gären, einen Traubensaft mit 12% Zucker während ca. 3 Monaten durchgären, bis 6 Gewichts-% Alkohol bilden, wogegen andere bei höheren Temperaturen sonst gärkräftige Hefen unter gleichen Verhältnissen nur ca. 1—2% oder noch weniger Alkohol erzeugen.

4. Die von uns gezüchteten und geprüften Kaltgärhefen gären selbst bei 0°, bildeten im Verlauf von z. B. 4 Monaten ca. 2 Gewichts-% Alkohol, während die Traubensäfte mit den gärkräftigen, aber kälteempfindlichen Hefen Steinberg 1917, Aßmannshausen$_5$ und Maienfeld$_{1a}$ in dieser Zeit noch keine Anzeichen von Gärung erkennen ließen.

5. Die Kälteempfindlichkeit kann nicht eine Anpassungserscheinung der bei Zimmertemperatur aufbewahrten Hefen sein, sondern ist eine den Hefen innewohnende, erblich fixierte art- oder rasseneigene Eigenschaft.

6. Die Kaltgärhefen erzielen bei kälteren Temperaturen einen höheren Vergärungsgrad, bilden in einem Saft unter solchen Verhältnissen mehr Alkohol als gärkräftigere, aber kälteempfindliche Hefen bei höherer Temperatur, z. B. 16°.

7. Es ist zu unterscheiden zwischen Wachstum und Vermehrung der Hefen und ihrer eigentlichen Gärtätigkeit. Durch die kälteren Temperaturen werden die Hefen im Wachstum mehr gehemmt als in der Gärtätigkeit. Es ist also möglich, selbst mit kälteempfindlichen Hefen, wie z. B. der gärkräftigen Steinberg 1917, in kalten Kellern Säfte durchzugären, sofern anfangs genügend Hefen vorhanden sind, also viel Anstellhefe zugesetzt wird. Da die Gärhemmung der Hefe Steinberg 1917 durch die tieferen Temperaturen größer war als bei der Hefe Herrliberg, so müssen sich die Zymasen der verschiedenen Hefen nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ voneinander unterscheiden.

8. Im Anschluß an die verschiedenen Gärversuche wurde sodann die Kaltgärhefe Wädenswil-Schloß$_3$ noch etwas eingehender in morphologischer und physiologischer Hinsicht studiert. Die Hefe bildet nicht nur elliptische Zellen, sondern auch, z. B. in Wasserbirnsaft, in Strichkulturen und Riesenkolonien auf Nährgelatine, neben elliptischen, auch längere keulen- und walzenförmige, sog. pastoriane Zellen. Wädenswil-Schloß$_3$ schreitet ziemlich leicht zur Sporenbildung, besonders bei 13°, aber auch selbst bei 5°, und gehört zur Gattung Saccharomyces. Sie verflüssigt in Strichkulturen, deren

seitliche Ränder gefranst erscheinen, die Gelatine selbst nach 4 Monaten nicht.

Lävulose, Dextrose und Galaktose, Saccharose und Maltose, ferner Raffinose werden von Wädenswil-Schloß$_3$ ganz vergoren. Sie greift Weinsäure und Zitronensäure nicht an, nur schwach Äpfelsäure, Essigsäure und Bernsteinsäure, am meisten die Milchsäure.

Jüngere Hefen werden bei ca. 55° C abgetötet, ältere bei ca. 57°. In morphologisch-physiologischer Hinsicht ist Wädenswil-Schloß$_3$ nahe verwandt mit der Hefe Saccharomyces intermedius Hansen; nach unserer Auffassung ist sie eine Varietät derselben und soll daher als Saccharomyces intermedius var. turicensis bezeichnet werden.

Nachdruck verboten.

Nährflüssigkeiten zur Züchtung der Protozoenfauna des Bodens.

[Aus dem mikrobiologischen Laboratorium des Botanischen Instituts der königl.-ungar. Hochschule für Berg- und Forstingenieure in Sopron. Vorstand: Prof. D. Fehér.]

Von **Lajos Varga.**

Es ist allgemein bekannt, daß die Protozoen des Bodens ihr gewöhnlich kurzes Leben im Wasser der Bodenkapillaren fristen. Ihre Körperstruktur ist außerordentlich fein und empfindlich. Diese Umstände erschweren recht erheblich ihre direkte Isolierung und mikroskopische Beobachtung. Dazu kommt, daß jede künstliche Veränderung sehr rasch das Leben dieser sehr kleinen und empfindlichen Lebewesen gefährden kann.

Falls die Änderungen der Lebensverhältnisse langsam und sukzessive vonstatten gehen, wodurch die Bodenprotozoen zur Durchführung ihrer biologischen Anpassung Zeit gewinnen können, so vollziehen sie ihren charakteristischen Lebenswandel, indem sie in Zystenform übergehen. Falls sie aber diese Umwandlung infolge von Zeitmangel nicht bewerkstelligen können, gehen sie gewöhnlich rasch zugrunde.

Obwohl sich Alexéieff (1923) ziemlich scharf gegen das Vorhandensein der Bodenprotozoen äußerte (1), indem er kategorisch aussprach: „Ainsi, j'affirme que les protozoaires du sol n'existent pas", haben die neuesten Untersuchungen nachgewiesen, daß viele Protozoen im Boden aktiv leben. Auch aus den Resultaten meiner Forschungen (6) über die Protozoen des Waldbodens geht ganz klar hervor, daß man im Waldboden fast in allen Jahreszeiten aktive Protozoen findet, deren Anzahl oft ganz beträchtlich sein kann. Die Protozoen müssen deshalb als wichtige Mitglieder der Biocönose des Bodens betrachtet werden.

Daß man die Existenz einer Protozoenfauna im Boden verneinen zu können glaubte, müssen wir auf den Mangel einer entsprechenden Untersuchungsmethodik zurückführen. Man arbeitete zuerst mit der sog. direkten Methode, indem man aus Bodensuspensionen diese kleinsten Lebewesen herausfischte. Ich brauche gar nicht näher zu schildern, wie zeitraubend und dem Zufall ausgesetzt diese Methode ist. Die direkte Beob-

achtung wird auch durch den Umstand erschwert, daß geringste physikalische und chemische Änderungen, die bei der direkten Beobachtung unvermeidlich sind, sehr rasch das Absterben der Bodenprotozoen herbeiführen. Und falls sie z. B. bei dem sehr groben mechanischen Eingreifen bei der Vorbereitung der Bodensuspensionen nicht absterben, so vollziehen sie sehr rasch den bekannten Enzystierungsprozeß, wodurch sie und ihre Lebensvorgänge der direkten Beobachtung wieder ziemlich rasch entzogen werden.

Viel bessere Erfolge erreicht man mit der indirekten Methode, welche mit der Züchtung der Bodenprotozoen arbeitet. Zur quantitativen Bestimmung der Waldbodenprotozoen benutzte ich auch die sog. Verdünnungsmethode, welche namentlich von Cutler (3) sehr gut ausgearbeitet wurde. Die Reinzucht erfolgte in Petrischalen auf Nähragar in Thermostaten bei 22° C. Ich habe dieses Verfahren modifiziert, da ich bald erfuhr, daß viele Protozoenarten auf den Agarplatten nicht gedeihen können.

Die größte Schwierigkeit hat jedoch der Umstand verursacht, daß die Agarplatten in den Petrischalen ziemlich schnell erhärten. Da die Bodenprotozoen ausgesprochene Wasserorganismen sind, entspricht der gallertartige kolloidale Zustand der Agarplatten ihren Lebensbedingungen nicht. Im Laufe meiner langdauernden Untersuchungen habe ich oft beobachtet, daß die Protozoen am besten in den kleineren, noch etwas Flüssigkeit enthaltenden Hohlräumen der Agarschicht gedeihen. Angesichts dieser Tatsache war ich nun bestrebt, die Agarplatten im möglichst feuchten Zustand zu erhalten. Ich begoß sie daher in der Regel wöchentlich mit sterilisiertem destillierten Wasser. Der Zustand der Agarplatten befriedigte mich aber auch nach dieser Manipulation nicht. Ich sah mich daher gezwungen, die Methode weiter zu verbessern. Zu diesem Zweck schnitt ich in die Agarplatten mit sterilem Messer einige „Fenster", d. h. ich hob an einigen (3—4) Stellen die Agarmasse in der Form von ca. 1 qcm breiten Quadraten aus und füllte den so entstandenen Raum mit sterilem dest. Wasser aus.

Ich fand es am besten, diese Manipulation ungefähr 1 Woche nach der Impfung der Platten vorzunehmen. Ich schnitt je zwei Fenster in der Nähe der Schalenwand und zwei in der Mitte der Platte aus. In diesen kleinen Kammern gedeihen nun die Amöben, Mastigophoren und Ziliaten ganz ausgezeichnet. Es ist recht interessant, daß die Mastigophoren, welche in der zähen kolloidalen Agarmasse ihre Schwimmapparate nicht entwickeln können und im amöboiden Zustand verharren, in dem leichtflüssigen, von Nahrungspartikelchen und Bakterien wimmelnden Medium der Fenster mit vollentwickelten Schwimmorganen (Flagellen) sich lebhaft bewegen und auffallend gut vermehren.

Mit diesem modifizierten Züchtungsverfahren können wir für die Bodenprotozoen viel günstigere Lebensbedingungen schaffen. Ich muß jedoch ausdrücklich betonen, daß bei der Anwendung dieser Methode alle Eingriffe besonders steril durchgeführt werden müssen. Beim Schneiden der „Fenster" sollen die Deckel der Petrischalen nur auf ganz kurze Zeitdauer im sterilisierten Raume aufgehoben werden, um Luftinfektionen zu vermeiden. Man kann nach einer gewissen Übung in einigen Sekunden 3—4 Fenster ausschneiden, wodurch die Möglichkeit einer Infektion auf ein Minimum zurückgedrängt wird.

Ich muß jedoch zugeben, daß alle Nachteile des Cutlerschen Ver-

fahrens auch mit dieser Methode nicht eliminiert werden können. Die Züchtung der Ziliaten gelingt z. B. auch hierbei sehr kümmerlich. Die Colpoden, Paramäcien, die bekanntlich die widerstandsfähigsten und gewöhnlichsten Ziliaten des Bodens darstellen, gehen ebenfalls sehr schwer oder gar nicht auf. Für die Züchtung der Ziliaten muß man daher andere, geeignetere Nährböden verwenden.

So ergab sich die Notwendigkeit, an Stelle der festen Nährmedien andere, womöglich vollkommen flüssige Nährböden heranzuziehen. Mein Leitgedanke war auch diesmal die anfangs erwähnte Auffassung über die ursprüngliche wasserbewohnende Eigenschaft der Protozoen, welche ja fast kategorisch die Verwendung der flüssigen Nährböden verlangt. Nach langwierigen Versuchen ist es mir endlich gelungen, entsprechende flüssige Nährböden zu finden, in welchen — ich kann es wohl als sicher annehmen — fast alle Bodenprotozoen gut gezüchtet werden können.

In unserem Institute haben wir die Erfahrung gemacht, daß bei der Kultur der physiologischen Bakteriengruppen in den angewendeten flüssigen Nährböden fast immer auch Protozoen auftraten, die sich hier gut entwickelten und vermehrten. Mehrere Jahre hindurch probierte ich nun diese Nährflüssigkeiten zur systematischen Untersuchung der Waldbodenprotozoen mit Erfolg aus. Ich verwendete nicht nur heimische, sondern von vielen Orten von Europa, Amerika und Afrika unserem Institute eingesandte Bodenproben. Es gelang mir, viele solche Protozoen unters Mikroskop zu bringen, welche wir aus den Böden gar nicht gekannt haben. Es ist leider nicht gelungen, eine einzige Nährflüssigkeit herzustellen, in welcher alle Bodenprotozoen heranzuzüchten wären, doch wäre es nach theoretischen Erwägungen gar nicht möglich, solche Standard-Flüssigkeit herzustellen. Auch die Bodenprotozoen besitzen verschiedene Lebensbedingungen, haben verschiedene biologische und physiologische Ansprüche, und man muß diese vielfach in Betracht ziehen, wenn man sie mit Erfolg kultivieren will.

Zur Züchtung der Waldbodenprotozoen verwendete ich die folgenden Nährflüssigkeiten, von denen Nr. 1 zur Kultivierung der aeroben stickstoffbindenden Bakterien, Nr. 2 der anaeroben stickstoffbindenden Bakterien, Nr. 3 der denitrifizierenden Bakterien und Nr. 4 der aeroben pektinzerstörenden Bakterien bei uns gebräuchlich sind:

Nr. 1.

1000 ccm dest. Wasser
15,00 g Mannit
1,00 g K_2HPO_4
0,20 g $MgCl_2$
0,50 g $CaCO_3$
0,20 g NaCl
0,10 g $FeSO_4$
0,10 g $Al_2(SO_4)_3$
0,01 g $MnCl_2$

Nr. 2.

1000 ccm dest. Wasser
2,00 g Dextrose
0,10 g K_2HPO_4
0,02—0,05 g $MgSO_4$
0,01 g NaCl
0,01 g $FeSO_4$
0,01 g $MnSO_4$
0,50 g $CaCO_3$
in Spuren $ZnSO_3$

Nr. 3.

I. 2,00 g KNO_3 gelöst in 1250 ccm Wasser
II. 1,00 g Asparagin
5,00 g Zitronensäure
2,00 g K_2HPO_4
2,00 g $MgSO_4$
0,20 g $CaCl_2$
} gelöst in 500 ccm Wasser und neutralisiert mit KOH.
in Spuren $FeCl_3$ und $ZnSO_4$

Nr. 4.

1000 ccm dest. Wasser
0,50 g $(NH_4)_2SO_4$
0,50 g K_2HPO_4
20,00 g $CaCO_3$
0,20 g $MgSO_4$
5,00 g Pektin
in Spuren NaCl

Nr. 1 und 2 werden auf p_H 6—7, Nr. 3 auf p_H 7 eingestellt.

Von Nr. 1 und 4 werden je 10 ccm in 100 ccm fassende Erlenmeyerkolben, von Nr. 2 und 3 je 10 ccm in 50 ccm fassende Erlenmeyerkolben eingefüllt; von Nr. 3 sind zuvor I und II zu mischen und auf 2000 ccm zu ergänzen. Die Sterilisierung aller Nährflüssigkeiten geschieht im Dampftopf. Beimpft wird mit 1—2 ccm einer Bakteriensuspension, die folgendermaßen gewonnen wird: 20 g Erde werden mit 100 ccm H_2O im 300—400-ccm-Kolben im horizontalen Schüttelapparat ½ Std. geschüttelt. Die Bodenteilchen werden dadurch im Wasser vollkommen verteilt.

Die Bebrütung erfolgt im Thermostaten bei 20—25°.

Nach 1—2 Wochen kann schon mit der mikroskopischen Untersuchung der Flüssigkeit auf Protozoen begonnen werden. Sie soll möglichst in vivo geschehen. Ich fixierte nur dann, wenn es die sichere systematische Bestimmung der Arten benötigte. Die Lebhaftigkeit der Bewegungen dieser im dunklen Raume der Thermostaten erzogenen Lebewesen wird auch durch das Licht der Mikroskopierlampe vielfach erhöht und es ist das überaus lebhafte Treiben der verschiedensten Arten von Bodenprotozoen und Bodenbakterien in vivo gut zu beobachten.

Nach Ablauf von 1—2 Monaten haben sich die Protozoen in der Nährflüssigkeit Nr. 1 meist gut vermehrt. Die meisten Arten finden ihre Ernährung in dem reichlich vorhandenen Azotobakter und in niederen Pilzen, die Arten jedoch, welche animalische Ernährung bevorzugen, können in den vielen kleineren und größeren Protozoen ebenfalls reichliche Nahrung finden. Inzwischen steigt die p_H der Nährflüssigkeit über 9 oder fällt oft unter 5, wenn hie und da die Pilze überwuchern. Viele Protozoen finden ihre Nahrung dadurch, daß sie die festen organischen Partikelchen durch ihre Pseudopodien oder Mundteile aufnehmen.

Überwuchern jedoch die Pilze stark, so gehen die meisten Protozoenarten ein und die echt polysaproben Arten, hauptsächlich Ziliaten (Colpoden, Colpidien) bleiben aktiv und vermehren sich oft massenhaft. Diese Erscheinung ist aber ziemlich selten und auch wenn sie vorkommt, so tritt sie regelmäßig erst im 3. oder 4. Monat auf. Bis zu dieser Zeit können wir durch die oft — wöchentlich 2—3mal — erfolgte Untersuchung des Inhalts der Flüssigkeit ein gutes Bild über die Protozoenfauna gewinnen.

Im 4.—6. Monat der Kultivierung werden die Arten immer weniger, doch vermehren sich einige Arten in ihrer Individuenzahl oft massenhaft. Nach Ablauf eines halben Jahres sind nur einzelne Individuen vorhanden, als Zeichen dafür, daß der kleine Biotop schon zugrunde geht und nicht mehr zu gebrauchen ist. Doch fand ich manchmal sogar nach 1 Jahr einige Individuen. Die Nährflüssigkeit Nr. 1 ist also binnen 3 Monaten am besten zu gebrauchen.

In ihr gedeihen die Amöbinen, Flagellaten und Ziliaten am besten. Interessanterweise kommen auch Nematoden, Hydracarinen und terrestrische (!) Acarinen heraus und vermehren sich oft massenhaft. Mich dünkt, diese Flüssigkeit wäre auch zur Züchtung dieser Tiere geeignet.

Stellen wir die kleinen Erlenmeyerkolben mit der Nährflüssigkeit ans Licht (möglichst in diffuses Licht) in ein Fenster, so kommen solche Ziliaten hervor, die wahrscheinlich nur in Zystenstadien als Gäste in den Boden hineingelangt sind und als lichtbenötigende Arten in der ständigen Dunkelheit der Thermostaten nicht zu aktivem Leben erwachen konnten. So fand

ich manche interessante Arten, die bisher im Boden nicht angetroffen worden sind.

In der Nährflüssigkeit Nr. 2 lebten die Ziliaten und Flagellaten am besten. Die Rhizopoden gedeihen aber nicht gut und man kann auch Amöbinen nur einzeln antreffen. Es kamen immer auch solche Protozoenarten vor, die in der Nährflüssigkeit Nr. 1 nicht vorhanden waren. Deshalb versäumte ich nie, auch diese Flüssigkeit einzustellen. Dabei sind sehr oft auch Nematoden, Hydracarinen und sogar Rädertiere aufgetreten und monatelang waren sie in reichlichen Mengen vorhanden. In dieser Flüssigkeit fand ich 7 Monate nach der Einstellung einer Bodenprobe aus Schweden (Kieferwald) das Rädertier Adineta vaga (!), welches sich anscheinend sehr wohl fühlte und stark vermehrte. Ich hoffe, daß ich später auch diese Metazoen in der Nährflüssigkeit mit Erfolg züchten werde.

In der Nährflüssigkeit Nr. 3 ließen sich am besten die folgenden Mastigophoren[1]) kultivieren: Pantostomatinae (Cercomonas, Cercobodo, Mastigamoeba), Protomastiginae (Bodo, Heteromita, Pleuromonas, Tetramitus etc.), Chrysomonadinae (Oicomonas, Monas etc.), so daß ich diese Nährflüssigkeit zur Kultivierung der Mastigophoren am besten empfehlen kann. Es kamen wohl auch andere Protozoen vor, wie einige Ziliaten (Colpoda) und Amöbinen, doch immer nur vereinzelt und zufälligerweise. Am seltensten traten die Amöbinen und andere Rhizopoden auf, z. B. aus einer Bodenprobe von Nordamerika fand ich einmal Centropyxis laevigata Pén. in vielen Exemplaren. Niedere Metazoen kamen nicht vor.

Nach Ablauf von 4—5 Mon. gehen die meisten Protozoen und Bakterien ein, wobei die p_H-Werte oft zur alkalischen Seite hinrücken, doch beobachtete ich öfters auch saure Reaktionen. Der kleine Biotop hat sich also ausgelebt und wird dadurch unbrauchbar. Gegen Ende dieser Zeit hat meistens nur eine Art (sehr oft Monas) die Herrschaft errungen und sich massenhaft vermehrt, während die anderen Arten alle eingingen bzw. sich encystierten.

Nährflüssigkeit Nr. 4 bringt fast ausnahmslos die gleichen Protozoen zum Gedeihen, die bei der Nährflüssigkeit Nr. 3 beschrieben worden sind, doch nicht in solchen Massen, wie in den letzteren. Diese Nährflüssigkeit benützte ich deshalb nur zu Kontrollzwecken und zum Vergleich. Hat man also viele Erdproben zu untersuchen, so kann man diese Nährflüssigkeit ruhig weglassen, da nur selten solche Protozoen-Arten zu finden sind, die nicht schon in den anderen Nährflüssigkeiten aufgetreten wären.

Außer den vorher beschriebenen 4 Nährflüssigkeiten versäumte ich jedoch nie auch Fleischagar in Petrischalen zu verwenden. Beim Herstellen des Fleischagars benutzen wir „Yestor"-Fleischextrakt (der Fleischfabrik von Kapuvár-Ungarn), setzen nur 0,5% Pepton und kein Kochsalz zu.

In diesem Nährboden leben die Amöbinen ziemlich gut und zusammen mit der herausgezüchteten Fauna der Nährflüssigkeit Nr. 1 können wir uns über den Amöbinen-Inhalt des Bodens vollkommen orientieren. Anderen Bodenprotozoen entsprach dieser Nährboden jedoch sehr

[1]) Ich folgte Sandons Einteilung. (The Composition and Distribution of the Protozoan Fauna of the Soil, London 1927.)

mangelhaft. Oft fand ich in diesem Agarnährboden terrestrische Acarinen und Nematoden, die sich nach Ablauf von 2—3 Mon. in solchen Massen vermehrten, daß sie die kolloidale Fleischextrakt-Agarmasse verflüssigten. Ich glaube, man könnte diesen Nährboden auch zur Züchtung der genannten Metazoen mit Erfolg verwenden. Ich machte die Beobachtung, daß diese Metazoen nur dann gut gezüchtet werden können, wenn von der Bodenemulsion möglichst viele Erdklümpchen in die Petrischalen hineingelangt sind.

Die beschriebenen Nährflüssigkeiten der Bodenprotozoen stellen miniatüre Biotope dar, in denen die Biocönose des Bodens gute organische und anorganische Lebensbedingungen besitzen kann. In den 10—11 ccm Flüssigkeit gedeihen die speziellen Bodenbakterien und die Protozoen haben sowohl in ihnen, als in den dargebotenen organischen und anorganischen Bestandteilen reichliche Nahrung.

Zusammenfassung.

1. Es werden vier Nährflüssigkeiten beschrieben, die bisher zur Züchtung der Bodenbakterien benützt wurden, welche aber nach kleinen Modifikationen auch zur Züchtung der Bodenprotozoen ausgezeichnet verwendet werden können.

2. Die Nährflüssigkeiten, als flüssige Medien, entsprechen den Lebensbedingungen der Bodenprotozoen, die ausgesprochene Wasserorganismen sind, viel besser, als die bisher benützten festen Nährböden aus Agar usw.

3. Es gelingt mit ihnen, von der systematischen Zusammensetzung der Protozoenfauna des Bodens ein ziemlich vollkommenes Bild zu gewinnen.

4. Manche Nährflüssigkeiten würden sich auch zur Züchtung einiger niederer Metazoen des Bodens (Nematoda, Rotatoria, Acarina) gut eignen.

5. Es wird eine modifizierte Fleisch-Agar-Methode beschrieben, nach welcher hauptsächlich die Amöbinenfauna des Bodens ergänzend studiert werden kann.

Literaturverzeichnis.

1. Alexéieff, A., A propos des „Protozoaires du sol". (C. R. Soc. Biol. T. 89. 1923. p. 28.) — 2. Alexéieff, A., A propos de Protozoaires du sol: existent-ils réellement? (Arch. Russ. Protist. T. 4. 1925.) — 3. Cutler, D. V., A method for estimating the number of active protozoa in the soil. (Journ. Agric. Sci. Vol. 10. 1920. p. 135.) — 4. Fehér, D., Untersuchungen über die Mikrobiologie des Waldbodens. I. Die elementaren Lebenserscheinungen der Mikroflora und Mikrofauna des Waldbodens. Berlin (Springer) 1933. — 5. Fehér und Varga, Untersuchungen über die Protozoenfauna des Waldbodens. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 77. 1929. S. 524—542.) — 6. Varga, L., Die Protozoen des Waldbodens. In: Fehérs Untersuchungen über die Mikrobiologie des Waldbodens. Berlin (Springer) 1933. S. 179—221.

Nachdruck verboten.

Soil Micro-organisms; their influence upon the Potential Difference between the Plant and the Soil.

By the Rev. **M. C. Potter**, Sc. D., M. A., Emeritus Professor of Botany in the University of Durham.

Corley Croft, New Milton, Hants, England.

With 3 figures in the text.

It is now generally recognised that electrical energy is liberated during fermentation, decomposition of organic compounds, and in certain metabolic reactions of living organisms. Thus the fermentation cell (1. 6. 7) in which a yeast-fermenting sugar solution, separated from a similar yeast-free sugar solution by means of a diaphragm, develops an intensity factor of .3 volts to .5 volts with a capacity factor depending upon the amount of sugar undergoing fermentation. In the experiments (B. P. 66)[1]) this capacity factor amounted to 2 milliamperes. In other words the work done during the downgrade reaction of fermentation is expressed partly as calories and partly as coulombs. In like manner the decay and decomposition of organic matter, including manure, through the agency of micro-organisms is an electrical phenomenon. It has been shown that a distinct potential difference is to be looked for between a rubbish heap and the soil in its vicinity and a method has been indicated whereby this quantity of electricity liberated in such heaps can be measured (6, 7).

Continuing this line of enquiry it becomes of great interest to enquire whether the electricity produced during the decomposition of manure and other organic matter in the soil (B. P. 69) may be conducted by means of the roots to the stem and leaves of green plants. This is especially the case as it has been pointed out (1, page 22) that the root ramifying through the soil absorbs various inorganic salts commonly termed "food". These inorganic salts, dissolved in the water of the transpiration current in the ionic state, naturally function as electrolytes, so that an electrical communication is established between the root hairs and the leaves together with other parts of the plant.

An attempt to decide this point forms the basis of the experiments now to be described. Trials with delicate milli-volt or milli-ammeters failed to register any electrical reaction between the plant and the soil. Apparently these instruments were not sufficently sensitive, but with the application of Faraday's law of electrolysis, by which minute electrical currents can be registered, a definite and positive result was obtained in every instance.

The experiments were carried out with ordinary garden plants. In the first instance large healthy specimens of Brassica formed the subject of the experiments.

The upper portion of the cabbage plant was cut off some six to twelve inches above the surface of the soil and into the pith of the stump so formed an electrode (A, Fig. 1) (either a rod of corrosion resisting steel or a

[1]) The initials B. P. with numbers following refer to literature cited in Bio-Electric-Potentials.

rod of carbon) was forced. Precautions were taken to ensure that the roots suffered no disturbance in the soil. A copper wire, B, was firmly attached to this electrode, with the junction of the wire and electrode protected from the weather by a covering of insulating tape or shellac. This wire terminated in a hook from which a hooked wire, D, could be suspended so as to reach nearly to the bottom of a small glass vessel, C, which rested on the ground near the cabbage plant. The vessel, C, was partially filled with a saturated solution of copper sulphate. The portion of the wire, D, immersed in the copper sulphate solution was covered with shellac, except at the extremity, for the purpose of insulation. By this arrangement the wire, D, could easily be removed for inspection and replaced without in any way disturbing the experiment. Further any copper which might be deposited on this wire would be localised at its extremity. To complete the circuit a copper wire, E, attached to an earthed electrode similar in nature to the electrode, A, in the plant, was bent over the edge of C so as to dip into the solution of copper sulphate.

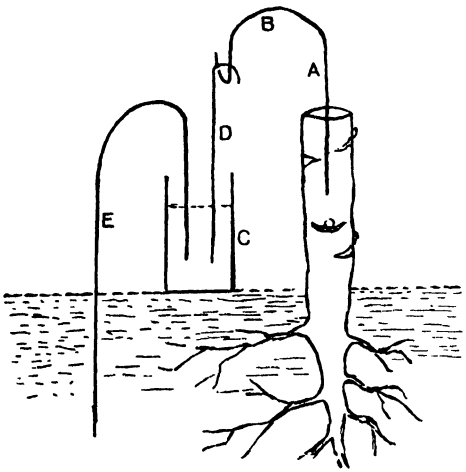


Fig. 1.

An alternative arrangement is shown in Fig. 2. The electrode, A, is tightly bound between the split halves of a petiole. The wire attached to this electrode terminated in a hook from which D could be suspended in the copper sulphate solution. The main difference between the arrangements consisted in the copper sulphate solution being contained in a porous pot embedded in the damp soil close to the plant, instead of in a glass vessel resting on the soil. It should be remarked that a petiole which had been halved after the removal of the blade would remain attached to the stem for a limited period of time only. Hence the duration of each of these experiments would be confined to a few days. The remaining leaves on the stem were in some cases removed and in others allowed to remain attached to the plant.

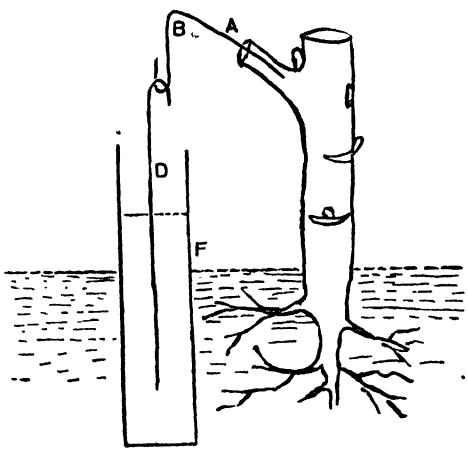


Fig. 2.

These experiments were carried out in parallel. That is, in some the electrode in the stem was connected to the wire dipping into the solution in the porous pot F, while in others the electrode in the split pettiole was connected to the wire immersed in the solution in the glass vessel C.

In every instance a deposition of copper was formed upon the wire D. That is, this wire always functioned as the cathode.

The same result was obtained when stems of Helianthus tuberosus and of Spinacia, bulbs of Allium cepa, and roots of Pastinaca sativa formed the subject of the experiments.

Figure 3 is a photograph of the extremity of the wire D. It shows the cap of copper deposited during the ten days September 14 to 24, when the electrode A was inserted in the root of a parsnip from which the growing point had been removed. The electrical arrangement was that figured in figure 1.

Quantitative measurements of the amount of copper deposited could not be made. This amount would naturally vary with the health of the plant under experiment. The diurnal variations of the temperature, humidity, composition and radiant energy of the atmosphere associated with the change in composition, temperature, and aeration of the soil, would be reflected in the quantity of copper deposit. And the problem is further complicated by similar variations of the soil conditions, especially the nature and amount of organic manure which materially influence the activity of soil micro-organisms. Hence the quantitative estimation of this copper deposit can only be deferred.

Fig. 3. Photograph of a wire D by Flatters and Garnett. Standard Wire Guage 19: Magnified 18 times.

No account could be taken of any electrical effects caused by the wound reactions (8, 9) nor of the current of injury. These effects would normally persist only for about 48 hours, and the gradual increase in the amount of copper deposited during the period of the experiment indicate that the wound reactions and the current of injury play only an unimportant part in these experiments.

In the preliminary experiments as described with Brassica stem or petiole, the electrode was forced into the pith and consideration was not given to the different potentials characteristic of the various tissues (Gicklhorn, Umrath). In fact the electrode would short circuit some of these potentials and the current observed would be due to their resultant. In the case of the parsnip, however, the electrode could be inserted in the central xylem without contact with the surrounding cambium or phloem. It is noteworthy that the copper deposit was much more pronounced in this case. This lends considerable support to the suggestion (Bio-Electric Potentials, page 23) that an electrical connection is maintained between the root and the leaves by means of the transpiration current in the xylem.

These experiments appear to indicate that a definite electrical relationship may exist between the green plant and the soil in which it is growing. That is potential differences may be found between the soil water and the cell sap of the root hairs, such as Brooks and Gelfan and also Osterhout found to be the case between the fluid bathing the cell of Nitella and certain points in the interior of the cell.

The passage of water through a membrane is known to be influenced

by the action of an electric current (Briggs, Strickler and Matthews). Presumably it may be inferred that the electrical relationship existing between the soil, root, stem and leaves has a direct bearing upon the absorption of water from the soil and may also have a bearing upon the esacpe of water from the cells during transpiration.

The plant and the soil may be compared to a primary cell where the cell walls and other plant structures act as a porous partition, on one side of which electricity is liberated in the soil by the action of micro-organisms and on the other side through the various metabolic processes in the plant. The resultant of these electrical reactions produces a current when they are short circuited.

Is it possible that the electricity liberated in the soil may influence the metabolic reactions in the plant?

Summary.

A definite electrical relationship probably exists between the green plant and the soil in which it is growing due to the electricity liberated by fermentation, decomposition and the chemical reactions within the plant.

References.

1. Bio-Electric-Potentials. Messrs Heffer and Co., Cambridge, England. — 2. Brooks, S. C., and Gelfan, S., Bio-Electric Potentials in Nitella. (Protoplasma. Bd. 5. 1929.) — 3. Briggs, T. R., Bonnet, H. S., and Pierson, H. L., Electrical Endosmose II. (Journ. of Physical Chemistry. Vol. 22. 1918.) — 4. Gicklhorn, J., and Umrath, K., Messung elektrischer Potentiale pflanzlicher Gewebe. (Protoplasma. Bd. 4. 1928.) — 5. Osterhout, W. J. V., Biological Reviews, Cambridge Phil. Soc. Vol. 6. 1931. — 6. Potter, M. C., A Method of Measuring the Electricity produced during the Decomposition of Organic Compounds. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 84. 1931.) — 7. Potter, M. C., Measurement of the Electricity liberated during Downgrade Reactions of Organic Compounds. Nature, 11. April, 1931. — 8. Potter, M. C., Healing of Parenchymatous Tissues in Plants. (British Association Report. 1905.) — 9. Potter, M. C., Temperature Relations in Wounded Reactions. (British Associations Report. 1925.) — 10. Strickler, H., and Matthews, J. H., Studies in Electric Endosmose. (Americ. Chem. Soc., Chemical Abstracts. Vol. 16.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die fungizide Wirkung von Salicylsäure und Salicylsäureverbindungen auf Tilletia tritici.

Von **Siegwart Hermann** und **Richard Neiger**, Prag.

I. Einleitung.

Die fungizide Wirkung der Salicylsäure ist schon lange bekannt. Praktische Anwendung fand sie bei der Bekämpfung des Rosenmehltaus und anderer Mehltaukrankheiten in Holland. In vergleichenden Untersuchungen von A. Janke und F. Beran[1]) über die mikrobizide Wirkung von organischen Säuren und ihrer Kupfersalze wurde festgestellt, daß Kupfer-

[1]) A. Janke und F. Beran, Über die mikrobizide Wirkung von organischen Säuren und ihren Kupfersalzen, ein Beitrag zum Problem des Zusammenhanges zwischen chem. Konstitution und mikrobizider Wirkung. (Arch. f. Mikrobiologie. Bd. 4. 1933.)

salicylat besser wirksam sei als das Chlorid und Sulfat, Salicylsäure wirksamer ist als Phenol. In einer Arbeit von Pi Suñer Bayo und César[1]) wird mitgeteilt, daß Salicylsäure beim Übergang in die Alkalisalze ihre antiseptische Wirkung auf Mikroorganismen verliert. Für die antiseptische Wirkung wird ein Abhängigkeitsverhältnis zwischen der Wirksamkeit der Substanz, dem Verteilungsquotienten, der Lipoidwirkung und dem Verhalten bei der Adsorption durch Kohle verantwortlich gemacht. Über die fungizide Wirkung des Kupfersalicylates ist verschiedentlich Mitteilung gemacht worden, doch wird vor dessen praktischer Anwendung wegen keimschädigender Wirkung gewarnt[2]).

Wir hatten Gelegenheit, Kupfersalicylate zu prüfen und fanden, daß bei der in der Praxis üblichen Beizdauer die keimschädigende Wirkung nicht so erheblich ist, wie in der Literatur angegeben wird. Dies war der Anlaß, eine systematische Untersuchung nicht nur des Kupfersalicylats, sondern auch anderer Salicylate in bezug auf die fungizide und keimschädigende Wirkung vorzunehmen.

II. Methodik.

Die untersuchten Verbindungen werden in 3 Gruppen eingeteilt:

1. Wasserlösliche Salicylate: Magnesium-, Kalium-, Natrium-, Kalzium-, Strontium-, Barium-, Kupfer-, Eisen-, Kadmium-, Zink- und Bleisalicylat.
2. Schwer lösliche Salicylate: Quecksilberoxydsalicylat, basisches Kupfersalicylat und Bleisalicylat.
3. Chloride der Alkali- und Erdalkalimetalle.

Die Prüfung der fungiziden Wirkung wurde nach folgenden Methoden vorgenommen:

A. Wasserlösliche Salicylate (Naßbeizung).

a) 0,05 g Tilletia tritici-Sporen werden in 50 ccm der Beizflüssigkeit 30 Min. lang unter öfterem Umschütteln gebeizt. Hierauf wird die Beizflüssigkeit durch ein Schleicher-Schüll Weißbandfilter abfiltriert. Die Sporen werden 24 Std. getrocknet, mit einem Spatel vom Filtrierpapier abgekratzt und auf 25 ccm einer 0,25 proz. Kalziumnitratlösung aufgestreut. Die Sporenkeimung wird am 5., 10. und 14. Tage kontrolliert.

b) Die Salicylate werden in einer 0,25 proz. Kalziumnitratlösung gelöst. Auf 25 ccm dieser Flüssigkeit werden 0,05 bis 0,08 g Tilletia tritici-Sporen aufgestreut und verbleiben während der ganzen Zeit der Untersuchung in dieser Lösung. Beobachtung am 5., 10. und 14. Tage.

B. Schwer lösliche Salicylate (Trockenbeizung).

a) Sporen und Beizmittel werden 30 Min. lang geschüttelt. 0,05 g des Gemisches werden auf 25 ccm einer 0,25 proz. Kalziumnitratlösung aufgestreut. Beobachtung am 5., 10. und 14. Tage.

b) Schwer lösliche Salicylate wurden auch nach der Vorschrift der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin zur Prüfung der fungiziden Wirkung von Beizmitteln untersucht. Nach dieser Vorschrift

[1]) Pi Suñer Bayo und César, Zur Kenntnis der verschiedenen Wirksamkeiten der Alkalisalze der Salicylsäure, der Benzoesäure und der Paraoxybenzoesäure auf die Mikroorganismen. (Annal. Soc. Españ. Fis. Quim. Vol. 27. 1929.)

[2]) Hollrung, Das Kupfer als Beizmittel gegen den Steinbrand. (Kühn Arch. Bd. 9.)

werden die Sporen mit dem Beizmittel 30 Min. lang geschüttelt und dann auf feuchte Erde aufgestrichen, die Keimung wird unter dem Mikroskop beobachtet.

Bei diesen Versuchen wurden nur selten gut übereinstimmende Resultate erhalten. Erde ist ein schwer definierbarer Nährboden, der nur schwer reproduzierbare Versuchsbedingungen schafft. Für Beizversuche, die über die praktische Brauchbarkeit eines Beizmittels Aufschluß geben sollen, ist diese Methode wohl am zweckmäßigsten, da sie den natürlichen Bedingungen am besten entspricht. Für die von uns durchgeführten Versuche, die theoretischen Charakter haben, schien uns die unter B. a) angeführte Riehmsche[1]) Methode zweckmäßig.

C. Auswaschbarkeit des Beizmittels.

Tilletia tritici-Sporen werden in einer Lösung bzw. Aufschwemmung der betreffenden Salicylate 30 Min. lang gebeizt und auf ein Filter gebracht. Das von den Sporen adsorbierte bzw. ihnen anhaftende Beizmittel wird mit n/10 Natronlauge, dann mit n/10 Salzsäure und schließlich mit Wasser bis zu neutraler Reaktion des Waschwassers weggewaschen. Die Sporen werden 24 Std. getrocknet und auf eine 0,25 proz. Kalziumnitratlösung aufgestreut. Beobachtung erfolgt am 5., 10. und 14. Tage.

III. Ergebnisse.

Beizung mit freier Salicylsäure.

Bei 30 Min. Naßbeize wird mit einer 0,0036 n (0,05%) Salicylsäurelösung eine keimtötende Wirkung erzielt. Bei niedrigerer Konzentration tritt Sporenkeimung auf. Um festzustellen, ob die Sporen nicht etwa nur in Keimstarre versetzt werden, wurden Tilletia tritici-Sporen in 0,05-proz. Salicylsäurelösung 30 Min. lang gebeizt. Ein Teil der Sporen wurde nach dem Trocknen auf 0,25 proz. Kalziumnitratlösung aufgestreut, ein anderer Teil mit n/10 Natronlauge, hierauf mit n/10 Salzsäure und dann mit Wasser gewaschen, um die Salicylsäure zu entfernen. Nach dem Trocknen wurden die Sporen auf Kalziumnitratnährlösung aufgestreut. Zur Kontrolle wurden Sporen, die in gleicher Weise nur mit n/10 NaOH, n/10 HCl und Wasser behandelt wurden, auf ihre Keimfähigkeit geprüft, ohne daß ein Unterschied gegen die sehr stark keimenden, nicht behandelten Sporen beobachtet wurde. Weder die nach der Salicylsäurebeizung nicht gewaschenen, noch die von der Salicylsäure befreiten Sporen keimten, woraus geschlossen werden kann, daß freie Salicylsäure keimtötend wirkt.

Erklärung der Tabellen:

Erste Vertikalreihe: Obere Zahl = Prozentgehalt des Beizmittels in Lösung. Untere Zahl = Normalität der Beizlösung. Der Grad der Keimung wird mit 1—4 Kreuzen (+) bezeichnet.

+	= vereinzelte Keimung,
++	= schwache Keimung,
+++	= starke Keimung,
++++	= sehr starke Keimung.

[1]) E. Riehm, Mitteilungen aus der Biolog. Reichsanstalt. 1920. H. 18.

Tab. 1. Fungizide Wirkung von Salicylsäure. (Geprüft nach Methode A. a)

Untersucht nach Tagen	0,0125% 0,0009 n	0,025% 0,0018 n	0,05% 0,0036 n	Kontrollversuch
5	++	∅	∅	+++
10	+++	+	∅	++++
14	++++	+	∅	++++

Beizung mit Alkali- und Erdalkalisalicylaten.

In den folgenden Tabellen werden die Resultate, die nach den im Vorstehenden beschriebenen Methoden erhalten wurden, angeführt und miteinander verglichen.

Um bei einigen Verbindungen überhaupt eine fungizide Wirkung erreichen zu können, mußte eine Art Dauerbeizung angewendet werden, die vorstehend unter „Methodik A. b)" beschrieben wird.

Um den Einfluß des Anions auf die fungizide Wirkung dieser Verbindungen zu prüfen, wurde auch die Fungizidität der Alkali- und Erdalkalichloride untersucht. Dabei zeigt sich, daß die stark dissoziierten Chloride im Vergleich zu den schwach dissoziierten Salicylaten erst in weitaus höheren Konzentrationen wirksam sind.

Es ergibt sich, daß die fungizide Wirkung weitgehendst abhängig ist vom Anion, in diesem Falle von der Salicylsäure, während das Kation, soweit es sich um die Erdalkali- und Alkaliverbindungen handelt, die Wirkung nicht wesentlich beeinflußt. Vergleichen wir die Normalitäten der nach Methode A. b) (Dauerbeizung) untersuchten, gerade fungizid wirkenden Lösungen, so finden wir, daß die Normalitäten in den einzelnen Gruppen Magnesium-, Kalium- und Natrium-, und Kalzium-, Strontium-, Bariumsalicylat praktisch gleich sind. Bei den nach Methode A. a) (30 Min. Naßbeizung) durchgeführten Versuchen ist die schlechte Wirksamkeit von Strontium- und Bariumsalicylat auffallend.

Grenzkonzentrationen der gerade fungizid wirkenden Lösungen in Prozenten und Normalitäten der nach Methode A. b) (Dauerbeizung) geprüften Salicylate und Chloride sind aus der Tab. 8 ersichtlich.

Beizung mit Salicylaten einiger Schwermetalle.

Die folgenden Tab. 9 und 10 geben ein Bild über die fungizide Wirkung der untersuchten Verbindungen.

30 Min. Naßbeize mit einer Kupfersalicylatlösung, die 0,00013% Cu^{++} enthält, bzw. einer 0,0003 n Kupfersulfatlösung, verhindert die Tilletia tritici-Sporen an der Auskeimung.

Auch die anderen geprüften Schwermetallsalicylate zeigten gute fungizide Wirkung. Bei 30 Min. Naßbeize wurden die Sporen nur in Keimstarre versetzt, die durch Auswaschen des Beizmittels mit n/10 Natronlauge und n/10 Salzsäure aufgehoben werden kann. Das Auskeimen der Sporen nach dem Auswaschen erfährt nur eine Verzögerung (Tab. 10).

Das Quecksilberoxydsalicylat, Blei- und bas. Kupfersalicylat wurde nach Methode B. a) (Trockenbeizung) geprüft und zwar wurden 0,1 g Sporen mit steigenden Mengen des Beizmittels in den Konzentrationen von 0,01 bis 0,1 g 30 Min. lang geschüttelt. Von dem auf diese Weise erhaltenen Gemenge von Beizmittel und Sporen wurden 0,05 g auf 25 ccm einer 0,25 proz. Kalziumnitratlösung aufgestreut. In keinem Falle keimten die Sporen aus.

Tabelle 2.

Fungizide Wirkung von Magnesiumsalicylat									Magnesiumchlorid				
	geprüft nach Meth. A. a) 30 Min. Naßbeizung (I)				geprüft nach Meth. A. b) Dauerbeizung (II)				geprüft nach Meth. A. b) Dauerbeizung (III)				
Beobachtet nach Tagen	2,0% 0,108 n	3,0% 0,162 n	4,0% 0,216 n	6,0% 0,324 n	1,0% 0,07 n	1,5% 0,107 n	2,0% 0,14 n	3,0% 0,21 n	1,5% 0,32 n	2,0% 0,42 n	3,0% 0,63 n	4,0% 0,84 n	Kontrollversuch
5	+ ÷ +	+ +	+ + +	+	+ + +	÷	+	∅	+ ÷	÷	÷	∅	+ + +
10	+ + ÷	+ +	+ + +	+ +	+ + ÷	÷	÷	∅	+ −	− [2])	+ [2])	∅	+ + + +
14	+ + + +	− + +	+ ÷ −	+ + [1])	÷ − + +	+	+	∅	+ − +	+	+	∅	+ + + +

[1]) Schläuche geschädigt. [2]) Myzelschläuche sehr geschädigt.

Tabelle 3.

Fungizide Wirkung von Natriumsalicylat									Natriumchlorid				
	geprüft nach Meth. A. a) 30 Min. Naßbeizung (I)				geprüft nach Meth. A. b) Dauerbeizung (II)				geprüft nach Meth. A. b) Dauerbeizung (III)				
Beobachtet nach Tagen	1,0% 0,063 n	1,5% 0,094 n	2,0% 0,126 n	4,0% 0,250 n	0,1% 0,0063 n	0,2% 0,013 n	0,5% 0,031 n	1,0% 0,063 n	0,25% 0,043 n	0,50% 0,086 n	1,0% 0,172 n	2,0% 0,344 n	Kontrollversuch
5	+ +	∅	∅	∅	÷ + +	+	∅	∅	+	+	∅	∅	+ + +
10	+ + +	+	+	∅	− − +	+	2 Schläuche	∅	+ ÷ +	÷ +	+ [3])	∅	− + ÷ +
14	+ ÷ +	+ −	+	∅	+ + +	−	+	∅	+ − − +	÷ −	÷ [3])	∅	− + + +

[3]) Myzele kurz und geschädigt.

Tabelle 4.

Beobachtet nach Tagen	Fungizide Wirkung von Kaliumsalicylat: geprüft nach Meth. A. a) 30 Min. Naßbeizung (I)				Kaliumsalicylat: geprüft nach Meth. A. b) Dauerbeizung (II)				Kaliumchlorid: geprüft nach Meth. A. b) Dauerbeizung (III)				
	2,0% 0,113 n	3,0% 0,167 n	4,0% 0,226 n	6,0% 0,333 n	0,25% 0,014 n	0,5% 0,028 n	1,0% 0,056 n	1,5% 0,085 n	0,25% 0,033 n	0,5% 0,067 n	1,0% 0,134 n	2,0% 0,268 n	Kontrollversuch
5	+++	++	−+	+	−+	+−	−+	∅	+	Vereinzelte Kranzsporangien		∅	++++
10	++++	+−+	+−+	+−	−−+	++	+−	∅	−++	++	+	∅	+−++
14	++−+	++++	+−−+	+++	+++	+−+	−+	∅	−++	++−	++	∅	++++

Tabelle 5.

Beobachtet nach Tagen	Fungizide Wirkung von Kalziumsalicylat: geprüft nach Meth. A. a) 30 Min. Naßbeizung (I)				Kalziumsalicylat: geprüft nach Meth. A. b) Dauerbeizung (II)				Kalziumchlorid: geprüft nach Meth. A. b) Dauerbeizung (III)				
	2,0% 0,114 n	3,0% 0,171 n	4,0% 0,228 n	6,0% 0,343 n	0,125% 0,007 n	0,25% 0,014 n	0,5% 0,029 n	1,0% 0,057 n	0,5% 0,09 n	1,0% 0,18 n	2,0% 0,36 n	4,0% 0,72 n	Kontrollversuch
5	+−	+−	++	∅	−+−	−+−[1]	∅	∅	+−−	+−	∅	∅	++++
10	+−	+−	++	∅	+++−	++−[1]	∅	∅	−+−−	−++	−	∅	++++
14	+++	+++	+++	∅	−+++	−−−[1]	∅	∅	−+−−	+++	+	∅	−−−+

[1]) Myzelschläuche geschädigt.

Tabelle 6.

Fungizide Wirkung von Strontiumsalicylat									Strontiumchlorid				
	geprüft nach Meth. A. a) 30 Min. Naßbeizung (I)				geprüft nach Meth. A. b) Dauerbeizung (II)				geprüft nach Meth. A. b) Dauerbeizung (III)				
Beobachtet nach Tagen	2,0% 0,101 n	3,0% 0,152 n	4,0% 0,202 n	6,0% 0,303 n	0,06% 0,0035 n	0,125% 0,0069 n	0,25% 0,014 n	0,5% 0,028 n	0,5% 0,038 n	1,0% 0,075 n	2,0% 0,150 n	4,0% 0,301 n	Kontrollversuch
5	+ ÷ +	+	+	+	+ + +	+ +	∅	∅	+ + +	+ +	∅	∅	+ + + +
10	+ + +	+ +	+ ÷	+ ÷	+ − +	÷ + +	+	∅	+ + +	+ −	−	∅	+ + + +
14	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	÷ − +	+	∅	− + +	− + +	+ +	∅	+ + + +

Tabelle 7.

Fungizide Wirkung von Bariumsalicylat									Bariumchlorid				
	geprüft nach Meth. A. a) 30 Min. Naßbeizung (I)				geprüft nach Meth. A. b) Dauerbeizung (II)				geprüft nach Meth. A. b) Dauerbeizung (III)				
Beobachtet nach Tagen	2,0% 0,089 n	3,0% 0,179 n	4,0% 0,358 n	6,0% 0,715 n	0,06% 0,003 n	0,125% 0,0061 n	0,25% 0,012 n	0,5% 0,024 n	0,5% 0,041 n	1,0% 0,083 n	2,0% 0,165 n	4,0% 0,33 n	Kontrollversuch
5	+ + +	+ +	+ −	+ + +	+ + + +	+ +	∅	∅	+ + +	+ +	+	∅	+ + + +
10	+ + +	+ +	+ +	+ + +	+ − + +	+ +	+	∅	+ ÷ −	+ − +	+ +	∅	+ + + +
14	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	− − + +	+ + +	+ +	∅	+ + +	− + +	+ +	∅	+ + + +

Tabelle 8.

Kation	-Salicylat		-Chlorid	
	Normalität der Lösung	Prozentgehalt der Lösung	Normalität der Lösung	Prozentgehalt der Lösung
	n	%	n	%
Magnesium .	0,142	4,0	0,840	4,0
Natrium . .	0,063	1,0	0,344	2,0
Kalium . . .	0,056	1,0	0,268	2,0
Kalzium	0,029	0,5	0,540	3,0
Strontium .	0,028	0,5	0,300	4,0
Barium . .	0,024	0,5	0,330	4,0

Tab. 9. Fungizide Wirkung der Schwermetallsalicylate. Gepruft nach Methode A. a.) 30 Min. Naßbeize.

Beizlösung	Prozentgehalt Normalität	Beobachtet nach Tagen 5	10	14
Kupfer-salicylat	0,0013% 0,00006 n	+ + + +	+ + + +	+ + + +
	0,0025% 0,0001 n	Ø	Ø	Ø
Eisen-salicylat	0,06% 0,036 n	Ø	+ + +	+ + +
	0,080% 0,048 n	Ø	Ø	Ø
Zink-salicylat	0,0025% 0,00013 n	+ + +	+ + + +	+ + + +
	0,005% 0,00027 n	Ø	Ø	+ +
	0,0125% 0,00066 n	Ø	Ø	Ø
Kadmium-salicylat	0,0025% 0,0012 n	Ø	+ +	+ + +
	0,005% 0,0025 n	Ø	Ø	Ø
Blei-salicylat	0,025% 0,01 n	+ +	+	+ + +
	0,05% 0,02 n	Ø	+	+
	0,10% 0,04 n	Ø	Ø	Ø

Tab. 10. 0,5% Naßbeize, 30 Min. Beizmittel mit n/10 NaOH, n/10HCl ausgewaschen. (Methode C.)

Beizmittel	Beobachtet nach Tagen: 5	10	14
Kupfersalicylat	+ +	+ + + +	+ + + +
Zinksalicylat	Ø	+ + + +	+ + + +
Kadmiumsalicylat	Ø	+ + +	+ + +
Filtrat einer 0,5 proz. Blei-salicylat-Aufschwemmung .	Ø	+ + + +	+ + + +
Filtrat einer 0,5 proz. Hg-Salicylataufschwemmung .	+ + +	+ + + +	+ + + +

Beim Aufstreichen der gebeizten Sporen auf nasse Erde nach Methode B. b) wurden auch günstige, jedoch uneinheitliche Resultate erhalten.

Um zu prüfen, ob die Tilletia tritici-Sporen durch Quecksilber- bzw. Bleisalicylatbeize getötet oder nur in Keimstarre versetzt werden, wurden Sporen in einer 0,2 proz. Aufschwemmung dieser Verbindungen 30 Min. gebeizt, filtriert, das Beizmittel, wie oben angegeben, ausgewaschen. Die Sporen wurden getrocknet und auf Kalziumnitratlösung aufgestreut. Sie keimten nicht. Wie aus vorstehender Tabelle ersichtlich ist, ließ sich die keimtötende Wirkung mit einem Filtrat einer Quecksilber- bzw. Bleisalicylataufschwemmung nicht erreichen.

Wir untersuchten noch das Trockenbeizmittel „Hajkol"[1]), das als wirksamen Bestandteil basisches Kupfersalicylat enthält. Eine 0,5 proz. wässerige Suspension gibt nach einiger Zeit in das Filtrat 0,016% Kupfer in Form von löslichem Kupfersalicylat ab. Wird der Suspension brandiger Weizen zugefügt, erhöht sich in der gleichen Zeit die gelöste Kupfermenge auf 0,02%. Das sind Mengen, die genügen, um die Tilletia tritici-Sporen am Auskeimen zu hindern. Auch hier läßt sich die fungizide Wirkung durch Auswaschen des Beizmittels aufheben, jedoch in geringerem Maße, als bei reinem Kupfersalicylat. Der Grund ist wohl darin zu suchen, daß dem Beizmittel kleine Mengen von Zersetzungsprodukten der Salicylsäure anhaften (Phenol, Salol), die selbst auch fungizid wirken.

Hajkol wurde auch nach den Vorschriften der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin geprüft. 100 g Weizen wurden mit 0,2 g Tilletia-Sporen infiziert und 30 Min. mit Hajkol in Konzentrationen von 0,05 bis 0,5% trocken gebeizt. Die von den Körnern abgekratzten Sporen wurden auf feuchte Erde gebracht und am 5., 10. und 14. Tage auf Keimung geprüft. Die Resultate der Untersuchung sind in folgender Tabelle wiedergegeben.

Beobachtet nach Tagen	Beizkonzentration in Prozenten				
	0,05	0,08	0,1	0,2	Kontrolle
5	Ø	Ø	Ø	Ø	+
10	+	Ø	Ø	Ø	+ + +
14	+	+	Ø	Ø	+ + +

Das Gemisch von Sporen und Beizmittel wurde vom Weizenkorn abgekratzt und in Kalziumnitratlösung gebracht. Es konnte jedoch in keinem Falle Sporenkeimung beobachtet werden. Die Feldversuche wurden auf verschiedenen Feldern mit stark infiziertem Weizen, der mit 0,1 bis 1% Hajkol trocken gebeizt wurde, ausgeführt. Bei der Ernte wurde ein vollkommen gesunder, sehr schön entwickelter und vollkörniger Weizen erhalten. Da immer nur geringe Mengen Kupfersalicylat in Lösung gehen, war auch die Keimkraft des Weizens selbst in hohen Beizkonzentrationen nicht beeinträchtigt. Der zu Kontrollzwecken gesäte infizierte und nicht gebeizte Weizen ergab eine Ernte, die zu 80 bis 85% brandig war. Zur Kontrolle wurde auch gesunder Weizen derselben Herkunft sowohl gebeizt als auch ungebeizt ausgesät. Der gebeizte Weizen, und zwar der gesunde und der in-

[1]) Hajkol wird nach einem besonderen Verfahren von der chemischen Fabrik B. Hájek G. m. b. H. in Prag-Premyslení hergestellt.

fizierte, war höher und schöner als der ungebeizte, woraus geschlossen werden kann, das Hajkol stimulierend wirkt.

Zusammenfassung.

Die Prüfung der fungiziden Wirkung von Salicylsäure und ihrer Verbindungen auf die Sporen von Tilletia tritici führte zu folgenden Ergebnissen:

1. Freie Salicylsäure hat schon in 0,05% (0,003 n) Lösung keimtötende Wirkung.

2. 30 Min. Naßbeize mit Natrium- bzw. Kalziumsalicylat wirkt erst in Konzentrationen von 4 bzw. 6% fungizid. Die anderen Alkali- und Erdalkalisalicylate wirken in dieser Zeit selbst in Konzentrationen bis zu 6% nicht fungizid.

3. Es wird an Hand vergleichender Versuche festgestellt, daß die fungizide Wirkung weitgehend abhängig ist vom Anion und von der Beizdauer.

4. Die wasserlöslichen Schwermetallsalicylate haben eine sehr gute fungizide Wirkung, doch werden die Tilletia tritici-Sporen nur in Keimstarre versetzt, die sich nach dem Auswaschen des Beizmittels mit n/10 Natronlauge und n/10 Salzsäure aufheben läßt.

5. Aufschwemmungen von Blei- bzw. Quecksilberoxydsalicylat wirken auf die Sporen von Tilletia tritici nach halbstündiger Beizdauer keimtötend.

Durch Beizung mit dem Filtrat einer 0,5 proz. Blei- bzw. Quecksilbersalicylat-Aufschwemmung, das geringe Mengen dieser Salze gelöst enthält, werden die Sporen in Keimstarre versetzt, die sich durch Auswaschen des Beizmittels mit n/10 Natronlauge und n/10 Salzsäure aufheben läßt.

6. Er wurden Laboratoriums- und Feldversuche mit dem Trockenbeizmittel „Hajkol", das als wirksamen Bestandteil basisches Kupfersalicylat enthält, durchgeführt.

Infizierter Weizen wurde mit unterschiedlichen Mengen des Beizmittels in den Konzentrationen von 0,05—0,5% geprüft. Bei 0,08% keimten die Sporen auf feuchter Erde nur vereinzelt, nach 0,1 proz. Beizung wird das Auskeimen der Sporen vollständig verhindert.

Im Feldversuch lieferte infizierter und mit „Hajkol" in den Konzentrationen von 0,1—1% trocken gebeizter Weizen eine vollkommen gesunde Ernte. Die Pflanzen waren schöner und kräftiger als die aus ungebeiztem Samen. Es wird auf stimulierende Wirkung des Kupfersalicylates geschlossen.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Skorodumow, L. N., Kultur und Kolonien der Mikroorganismen. 1933. 44 S. [Russisch.]

Verf. leitet die Monographie mit der Betrachtung ein, daß die Form der Bakterienkolonien meist nur insofern Interesse erweckt, als diagnostische Zwecke in Betracht kommen, während die Kolonie an und für sich, als Gemeinschaft der Mikroorganismen, fast gar nicht beachtet worden ist. Im Bau der Kolonien einiger Pilze, der Diatomeenskelette und der Liesegangschen Figuren besteht gewisse morphologische Ähnlichkeit. Allen drei Fällen gemeinsam sind die chemischen Reaktionen zwischen den Elektrolyten, die in den Kolloiden verlaufen. Hinsichtlich der Liesegangschen Figuren stellt Verf. fest, daß der wäßrig-kolloide Raum unter der Reaktionsstelle eine entscheidende Rolle spielt, indem das Auftreten der „konzentrischen" Ringe bei Berührung der Kaliumferrozyanat-Gelatine mit Arg. nitricum ausschließlich von der Dicke der Kolloidschicht an der betreffenden Stelle abhängt. Bei Betrachtung des Wachstums der Kulturen auf flüssigen Nährböden erörtert Verf. die Ursachen, die das Aufhören der Vermehrung der Mikroorganismen veranlassen. Wachstumshemmung durch Stoffwechselprodukte und Aufhören des Wachstums infolge der Aufbrauchung des Nährbodens ist kaum annehmbar, da Bakterien sich in Filtraten vermehren können. Verf. führt 2 Hypothesen für Wachstumshemmung der Bakterien an. Nach der ersten besitzen die Zellen eine hemmende Ausstrahlung mit sehr begrenzter Wirkungszone; nach der zweiten ist der Raum an und für sich als aktiver Erreger des Teilungsprozesses der Bakterien anzusehen; mit Abnahme der Entfernung zwischen den Bakterien nimmt auch die erregende Wirkung des Raumes ab. Auf festen Nährböden entwickeln sich die Kolonien nur, wenn der Nährboden steril ist und die Zellen in gewisser Entfernung voneinander liegen. Diese Momente fehlen bei natürlichen Bedingungen, dabei bilden sich auf verschiedenen Substraten keine Kolonien, z. B. auf Nahrungsmitteln. Die zwischen den Zellen entstehende Kapillarität bewirkt das Aussaugen der Feuchtigkeit aus den intermyzellaren Räumen des Nährbodens und bedingt die Richtung der neuen Entwicklung der Bakterien. Die Kolonien müßten folglich konusförmig sein, werden jedoch weiterhin, infolge des Austrocknens der Kolonien selbst abgeflacht. Auf dünnen Stellen des Nährbodens sind die Kolonien im Verhältnis zu ihrer Basisfläche höher, als auf dicken Stellen desselben, welche Erscheinung von schnellerer Entwässerung der dünnen Stellen und Hemmung des Wachstums auf der Fläche abhängt. Die konzentrische Form der Aspergillus fumigatus-Kolonien hängt von verhältnismäßig spärlicher Feuchtigkeit des Nährbodens ab. Der konzentrische Bau alter Bakterienkolonien ist gleichfalls als Folge des Austrocknens des Nährbodens anzusehen. Auf Eiweißnährböden kann indes der konzentrische Bau der Kolonien durch „positive" oder „umgewandte" Phasen der Fermentwirkung eiweißzersetzender Bakterien verursacht werden. Bei Entwicklung dieser Bakterien im Inneren der Gelatineschicht entstehen Kolonien in Gestalt konzentrisch gebauter Kugeln, was gleichfalls der periodischen Wirkung eiweißzersetzender Fermente zuzuschreiben ist. Die radiale Faltung der Pilzkolonien ist ebenfalls weniger von der Pilzart abhängig, als vom Wassergehalt des Nährbodens. Bestätigt wird diese Ansicht über die Ursache der Entwicklung verschiedener morphologischer Eigenschaften der Bakterienkolonien durch die Bildung kugelförmiger Kolonien im Inneren des Nährbodens, d. h. bei Bedingungen, wo der Nährboden nach allen Richtungen gleichartig ist. Die Bildung der von Plotz beschriebenen y-förmigen Kolonien im Inneren des Nährbodens ließe sich durch Kristallisierung der Nährbodensalze erklären (die Kolonien haben die Gestalt von 3 halbkreisförmigen Platten, die mittels ihrer flachen Ränder so miteinander in Verbindung stehen, daß sie einen Winkel von 120° bilden). Die Faltenbildung der Kolonien ist von außerordentlich schneller Vermehrung der Mikroorganismen abhängig, deren Ursache die erleichterte Adsorbierung der Feuchtigkeit aus dem wenig Gel enthaltenden Nährboden ist. Die Mikroorganismenkolonien sind kein Agglomerat von Mikrobenkörpern, sondern besitzen gewisse, für sie als Ganzes bezeichnende Eigenschaften. Zum Beispiel tritt unter dem Einfluß äußerer Faktoren Differenzierung der Zellen ein und die nach außen gelegenen Mikroorganismen bilden eine Schicht, die funktionell als Membran der Kolonie wirkt. Diese Schicht hemmt weitere Vermehrung der Mikroorganismen und vermindert die interzelluläre Kapillarität, infolgedessen wiederum der Zufluß der Säfte aus dem Nährboden abnimmt und das Wachstum der Kolonie aufhört.

Verf. betrachtet die Zelle als „organisiertes Ganzes". Im Inneren der Kolonie können sich Zellengruppen bilden, deren Eigenschaften von denen der anderen Zellen abweichen — diese Gruppen können die Fähigkeit erwerben, Kohlenhydrate zu vergären, Gelatine zu verflüssigen, Myzelfäden zu entwickeln oder auf der Oberfläche der Kultur neue, sekundäre Kolonien zu bilden.

A. Imšenecki (Leningrad).

Allgemeines und Methodisches.

Schmidt-Lange, Bakteriologische Schnelluntersuchung von Wasserproben. (Gesundheitsing. Bd. 56. 1933. S. 487.)

Um Zeit bis zur Feststellung einer brauchbaren Keimzahl in Wasserproben zu ersparen, wird die mikroskopische Auszählung der auf Agar bei 37° nach 6 Std. entstandenen Kolonien empfohlen. Diese einfache Untersuchungsmethode ist, was die Zeitersparnis anlangt, leistungsfähiger als andere; sie eignet sich für alle Bakterienzählungen, selbst dann, wenn die Keime vorher schädigenden Einflüssen ausgesetzt waren.

Limbach (Leipzig).

Verhave, Th. H., Verfahren zur Herstellung von 2,3-Butylenglykol aus Kohlehydraten durch Vergärung. (DRP. 572 694, vom 2. 3. 1933.)

Im Gegensatz zu bisherigen Methoden der mikrobiologischen Darstellung von 2,3-Butylenglykol, welche auf der Vergärung von Glukose unter Zusatz kostspieligen Peptons beruhten, werden im vorliegenden Verfahren wohlfeile Rohstoffe, wie Mais- und Kartoffelmaischen, solche von Roggen, Gerste, Weizen, Hafer usw., Melassen, Sirupe, ja selbst Molken benutzt. Man mischt diese Ausgangsmaterialien mit Stickstoffverbindungen, Phosphaten und Karbonaten und vergärt unter reichlicher Luftzufuhr mittels Clostridium polymyxa, Aerobacter aerogenes oder mit anderen Bakterien von entsprechendem Gärvermögen. Die Dauer der Vergärung wird bedeutend abgekürzt, die Ausbeute wesentlich gesteigert. Limbach (Leipzig).

Comm. Solvents Corp., Terre Haute, Vigo County, Indiana U.S.A., Verfahren zur Gewinnung der Gärgase bei Herstellung von Aceton und Butylalkohol. (DRP. 572 326, vom 23. 2. 1933.)

Die Vergärung der Maische durch Butyl-Azeton-Bakterien wird zwecks ständiger Gewinnung reiner, insbesondere stickstoff- und sauerstoffreicher Gärungsgase in einem geschlossenen System durchgeführt. Auch das Einführen der Nährlösung und die Entfernung der vergorenen Maische erfolgt unter Ausnutzung des Druckes der Gärgase. Mit Hilfe des geschilderten Verfahrens wird eine höchst wirtschaftliche Arbeitsweise erzielt; die gewonnenen, reinen Gärgase können ohne weitere Zwischenbehandlung dem Verarbeitungsprozeß zur Herstellung von Methanol, Formaldehyd usw. zugeleitet werden. Limbach (Leipzig).

Verhave, Th. h., Verfahren zur Herstellung von Acetylmethylcarbinol. (DRP. 575 594, vom 13. 4. 1933.)

Man vergärt eine Maische, die außer Kohlehydraten (vorzugsweise Zucker) auch Stickstoffverbindungen, Phosphate und Carbonate enthält, mit einer Mikrobenkultur, die unter gewöhnlichen Bedingungen 2,3-Butylenglykol liefert, und zwar derart, daß man den Ansatz während und gegebenen-

falls auch nach der Gärung einer so kräftigen Lüftung aussetzt, daß die Bildung von 2,3-Butylenglykol ganz oder teilweise verhindert oder das gebildete Butylenglykol umgewandelt wird und Acetylmethylcarbinol entsteht. Auf solche Weise wird das Carbinol aus Zucker mit Ausbeuten von 35% und mehr erhalten. Limbach (Leipzig).

Frey, A., Verfahren zur Herstellung von Citronensäure durch Vergären von Kohlenhydraten mittels Schimmelpilzen unter Verwendung von Pilzdecken. (DRP. 567 071, vom 15. 12. 1932.)

Die Citronensäurebildung erfolgt in mehreren übereinander angeordneten Schalen mittels eines Gemisches von Aspergillus niger und Citromyces glaber. Die Gärschalen befinden sich innerhalb eines Gärkastens und sind so miteinander verbunden, daß die unterhalb der Pilzdecke entstehende Citronensäure gewissermaßen in statu nascendi abgezogen und in die untere Hälfte der nächsten Gärschale eingeleitet wird; auf diese Weise wird, entgegen anderen Vorschriften, lediglich durch Diffusion und Mischung, ohne besondere Rührvorrichtung oder Bewegung, der Pilzdecke immer neue Zuckerlösung zugeführt. — Durch das Festhalten am Prinzip der Oberflächengärung vereinigt das vorliegende Verfahren folgende Vorteile: 1. Kontinuierliche Durchführung der Gärung, allein begrenzt durch die physiologische Gärleistung der Schimmelpilzdecke; 2. regulierbare Strömungsgeschwindigkeit, die durch Diffusion ein Inbewegunghalten der Lösung unnötig macht und die gebildete Citronensäure durch Überführung in unlösliche Salze sofort der Möglichkeit der Veratmung entzieht; 3. kontinuierliche Abscheidung der Citronensäure in einem von der eigentlichen Gärung getrennten, aber mit der Gärungsapparatur verbundenen Gefäß durch Zugabe von jeweils drei Viertel der theoretisch notwendigen Menge an $CaCO_3$ bei erhöhter Temperatur, um gleichzeitig eine Zwischensterilisation vorzunehmen und konstant das p_H-Optimum zu erreichen; 4. allmähliche Zugabe der Kohlenhydratlösung zu der entwickelten Decke.

Limbach (Leipzig).

Bamag-Meguin A.-G., Verfahren zur Herstellung von Milchsäure. (DRP. 574 835, vom 30. 3. 1933.)

Das Verfahren betrifft eine Ausnutzung der im Hausmüll enthaltenen animalischen und vegetabilen Abfallstoffe zur Gewinnung von Milchsäure auf biologischem Wege. Hausmüll enthält an den genannten Stoffen etwa 10 bis 15%. Diese werden — nach evtl. vorzunehmender Wasserdampf- oder Heißluftsterilisierung — in ein Gärgefäß eingebracht und schichtweise mit Reinkulturen von Schimmelpilzen beimpft, das Gefäß verschlossen und eine Temperatur von ca. 25—30° aufrechterhalten. Nach etwa 8—10 Tagen sind die Polyosen, die Biosen und die Triosen dieser Hausmüllbestandteile durch Invertierung oder durch Spaltung in Hexosen übergeführt. Die nunmehr schlammartig gewordene Masse wird durch Aufkochen sterilisiert und durch steril gehaltene Leitungen in die Milchsäuregärgefäße abgeführt. Nunmehr impft man mit Reinkulturen von B. Delbrückii; die Vergärung erfolgt in geschlossenem Gefäß. Die Ausbeute an Milchsäure schwankt je nach dem verzuckerbaren Anteil der Müllbestandteile in weiten Grenzen; im allgemeinen werden aus 100 kg verzuckerter Substanz 150 kg 50 proz. Rohmilchsäure erhalten. — Das Verfahren hat nicht zuletzt auch deshalb wesentlichen Wert, weil auf diese

Weise Abfallstoffe rasch beseitigt werden, die durch Kompostierung erst nach Monaten umgesetzt werden können. Limbach (Leipzig).

Bosurgi, G., und Stukart, P., Verfahren zur Aufarbeitung von Fruchtsäften, insbesondere Agrumensäften, zwecks Gewinnung von Citronensäure bzw. deren Salzen. (DRP. 581 495, vom 13. 7. 1933.)

Während bisher eine Vergärung des im Citronensaft auftretenden Zuckers nur auf spontanem Wege möglich war, wird nach dem vorliegenden Verfahren den zu vergärenden Säften vor ihrer Vergärung Hefe zugesetzt, und zwar solche Spezies, die dem herrschenden p_H angepaßt sind. Auf diese Art wird der Zucker schnell und vollkommen vergoren, was in 48, oft schon in 24 Std. erreicht ist. Die Vergärung kann noch weiter unterstützt werden durch Zugabe von geringen Mengen Kalk (als Hydroxyd oder als Carbonat). Dadurch wird einmal das Milieu des Ferments günstiger gestaltet; außerdem tritt eine Verbesserung der Saftklärung dadurch ein, daß die Calciumionen als Coferment für die Pektinkoagulation durch das Enzym Pektase wirken. Die Verwendung von Ca-Carbonat hat vor Calciumoxyd zudem noch den Vorteil, daß das sich entwickelnde Kohlendioxyd die Fasern des Rohsaftes und die Trübstoffe mit sich reißt und die Säfte so schon eine mechanische Vorklärung erfahren. Limbach (Leipzig).

Bernhauer, K., Verfahren zur Herstellung von Gluconsäure oder Citronensäure und deren Salzen. (DRP. 587 819, vom 26. 10. 1933.)

Während man bisher annahm, daß bei der biologischen Herstellung der Glukonsäure von reiner Glukose bzw. reinen Zuckerarten ausgegangen werden müsse, benutzt das vorliegende Verfahren Zucker enthaltende Rohstoffe, wie Rübenschnitzel, Melasse, Rohzuckersäfte, besonders auch Getreide, Roßkastanien, Lupinen usw. Als Glukonsäurebildner finden entweder Pilzstämme: Aspergillus, Citromyces, Penicillium, Mucor oder Bakterien, wie: B. xylinum, B. industrium, B. oxydans, B. gluconicum, Anwendung. Beim Arbeiten mit Pilzen beträgt die Gärtemperatur 30—35°, bei Beimpfung mit Bakterien 25- 30°. Während des Arbeitsganges werden Giftstoffe zugesetzt, welche das Aufkommen schädlicher Mikroorganismen verhindern, ohne die enzymatische Tätigkeit des Säurebildners zu hemmen, z. B. organische oder anorganische Quecksilberverbindungen. Die sich bildende Pilz- bzw. Bakteriendecke wird von Zeit zu Zeit vorsichtig angehoben, wodurch der Gäransatz entgast und die Lebensdauer des Säurebildners verlängert wird. Der Prozeß ist unter Einrechnung der Wachstumsperiode des Myzels beim Arbeiten mit Pilzen in 4—5 Tagen, beim Arbeiten mit Bakterien in 1—2 Wochen beendet.

Limbach (Leipzig).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virus-Untersuchungen.

Grundmann, E., Beiträge zur Ökologie von Bacillus mycoides (Flügge). (Nach Untersuchungen im Hochgebirge.) (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 57—83.)

Verf. untersuchte die Verbreitung einer bestimmten Bakterienart, B. mycoides, in Hinsicht auf die Ökologie und schlägt damit einen aus-

sichtsreichen Weg ein, der bisher nur bei sehr auffälligen Formen, wie Azotobacter, beschritten worden ist. Die Untersuchungen wurden im Hochgebirge (Karwendel, Tuxer Vorberge, Stubaier Alpen) angestellt, weil dort in engster Nähe, oft nur auf wenige Meter durch einen schwer zugänglichen Grat getrennt, Kultur- und Naturböden nebeneinander vorkommen. Das wesentlichste Ergebnis ist, daß das Bakterium nur von da kommt, wo Menschen oder Tiere hinkommen; die Höhengrenzen stimmen mit den Beweidungsgrenzen überein. An Nordhängen ist das Vorkommen geringer als an Südhängen.

Die Konzentration der Wasserstoffionen hat auf Dungböden keinen Einfluß, anscheinend aber auf dungfreien Böden. Wesentlich, auch für das Verhältnis Sporen/vegetative Stäbchen scheinen die klimatischen Verhältnisse zu sein, Temperatur und Wasser. Der Gesamtkeimgehalt ist am höchsten zur Zeit der Hauptvegetationszeit und fällt gegen den Herbst; es müssen also viele vegetative Zellen vor der Sporulation zugrunde gehen. Es wurden Glatt- und Rauhformen sowie alle Übergänge gefunden.

Isolierung von Stämmen aus Böden mit niedrigerem p_H-Wert zeigten keine entsprechende Anpassung in künstlicher Kultur gegenüber Stämmen aus neutralen Böden. Doch nutzten Stämme aus gedüngten Böden C- und N-Quellen besser aus als solche aus ungedüngten Böden. Wachstum konnte auch erzielt werden mit Glyzerin als einziger C- und Ammoniak als einziger N-Quelle. Rippel (Göttingen).

Nowogrudsky, D. M., Über Stickstoffprodukte in Azotobakterkulturen und das gegenseitige Verhältnis von Azotobacter und anderen Bodenmikroben. (Microbiology. Vol. 2. 1933. S. 237—250.) [Russisch.]

Das Wesen der Symbiose des Azotobacters mit anderen Mikroorganismen ist nicht klar, weil der chemische Prozeß bei der Stickstoffassimilation an und für sich nicht aufgeklärt ist — durch genaueste chemische Methoden lassen sich in Azotobacterkulturen keine Zwischenprodukte der Stickstoffassimilation feststellen. Durch Hinzufügen von Bakterien, die zur Stickstoffassimilierung verschiedener Stickstoffverbindungen fähig sind, zu Kulturen von Azotobacter chroococcum auf stickstofffreien Nährböden, wurde festgestellt, daß in verschiedenen Perioden der Kultur die Symbiose mit verschiedenen Bakterienarten möglich ist.

In jungen Azotobacterkulturen gedeihen nur Arten, die Stickstoff, der nicht in Verbindung mit Eiweißstoffen steht, assimilieren können (Bac. mesentericus). In alten Kulturen vermehren sich auch diejenigen Bakterienarten gut, die zu ihrer Entwicklung Eiweißsubstanzen erfordern (Bac. subtilis, B. mycoides). Folglich sammeln sich in der Azotobacterkultur zuerst die einfachsten Stickstoffverbindungen an und späterhin kompliziertere.

Bei den Versuchen wurden in bezug auf Stickstoff erschöpfte Kulturen angewandt, um die Möglichkeit der Vermehrung auf Kosten des intrazellulären Stickstoffes auszuschließen. A. Imšenecki (Leningrad).

Ebert, B. P., und Rubel, N. N., Zur Serologie von Azotobacter. (Arch. Scienc. Biologiques. T. 33. No. 3—4. 1933. p. 353—365.) [Russ.]

Die Untersuchung hatte die Aufgabe, auf serodiagnostischem Wege den Verwandtschaftsgrad zwischen Az. chroococcum und Az. agile

bezüglich der Strukturgleichheit des antigenen Apparates der verschiedenen Stämme dieser beiden Arten und der antigenen Eigenschaften ihrer alten Kulturen festzustellen. Zur Serumgewinnung wurden Kaninchen intravenös mit Kulturen von Az. chroococcum und Az. agile behandelt.

Als Nährboden diente Fleisch-Pepton-Agar mit Zusatz von 3% Glukose. Die Immunisierungsdosen waren klein: I Injektion 50 Mill. in 1 ccm, II — 100 Mill. in 1 ccm, III — 200 Mill., IV und V — 400 Mill. Die Injektionen wurden mit Zwischenräumen von 4 Tagen ausgeführt. Das Blut wurde 9—18 Tage nach der letzten Injektion entnommen. In der ersten Versuchsserie wurden nicht über 2 Tage alte Kulturen, in der zweiten zweiwöchentliche und in der dritten Kulturen von 1 Monat angewandt. Morphologisch boten die zur Immunisierung angewandten Kulturen folgendes Bild: In den Kulturen von Az. agile Nr. 4 sind Kokkenformen von verschiedener Größe vorherrschend, hin und wieder stäbchenförmig verlängerte Zellen. In alten Kulturen traten kompakte „piknotische" und sich schwach färbende „vakuolisierte" Formen auf. In jungen Kulturen von Az. chroococcum Nr. 47 waren kleine, rundlich-ovale Kokken vorherrschend, im weiteren Verlauf traten in den Kulturen in bedeutender Menge stäbchenförmige Zellen, Riesenzellen und kugelförmig aufgeblähte degenerative Formen auf, die späterhin zum Teil zerfielen, jedoch nicht völlig verschwanden, sondern als Schattenformen bestehen blieben.

Mit dem gewonnenen Serum wurden Agglutinations- und Komplementbindungsreaktionen ausgeführt. Es erwies sich, daß junge und alte Kulturen gleiche antigene Eigenschaften besitzen, bei Immunisierung mit Kulturen von verschiedenem Alter war der Titer des Serums gleich. Untersuchung der Zunahme der Antikörper zeigte, daß, obwohl bei Anwendung jüngerer Kulturen die Antikörper sich schneller anhäufen, die Agglutinine sich indes sowohl gegen den homologen, wie gegen den heterologen Stamm bilden. Bei Anwendung alter Antigene hingegen wurde bedeutende Spezifität beobachtet. Versuche mit Agglutination und Komplementbindungsreaktionen zeigten, daß verschiedene Stämme von Az. chroococcum und Az. agile sich stark voneinander unterscheiden.

Verschiedene Rassen von Az. chroococcum lassen sich in bezug auf ihre antigenen Eigenschaften nicht in eine Art zusammenfassen, während die Rassen von Az. agile als gemeinsame Gruppe angesehen werden können. Diese Ansicht wird auch durch den Versuch von Castellani bestätigt. Die serodiagnostischen Methoden sind folglich für die Differentialdiagnostik von Azotobacter völlig geeignet.

A. Imšenecki (Leningrad).

Sawin, A. K., Über den Aktivator der milchsauren Gärung. (Microbiology. Vol. 2. 1933. p. 266—276.) [Russisch.]

Zusatz von Türkischen Bohnen beschleunigt die Gärung des Milchserums unter dem Einfluß von Bact. caucasicum. Früher schrieb man diese Wirkung aus den Bohnen extrahiertem Pflanzeneiweiß zu. Eine Reihe Versuche mit Erhitzung des Serums zeigte indes, daß das auf Bohnen gestandene Serum weder durch Pasteurisieren, noch durch Sterilisieren in überhitztem Dampf (121°) seine Fähigkeit zu schneller Gärung verliert. Hinzufügen von wäßrigem Extrakt aus türkischen Bohnen zum Milchserum beschleunigt gleichfalls den Gärungsprozeß. Dialysationsversuche zeigten, daß im äußeren Dialysat die Aktivierungsfähigkeit erhalten bleibt, während das innere Dialysat diese Eigenschaft zum größten Teil verliert. Der Aktivator ist folglich dialysationsfähig, im Wasser löslich und widerstandsfähig gegen Hitze, gehört folglich nicht zu den Eiweißstoffen. Es wäre möglich, daß der Aktivator 2 Phasen besitzt, eine einfachere und eine kompliziertere, die nicht dialysationsfähig ist.

A. Imšenecki (Leningrad).

Otani, Y., Vergleichende Studien über die Gattung Mucor. II. Mitteilung: Über die Temperaturverhältnisse. (Transact. of the Tottori Soc. of Agr. Sci. Vol. 3. 1931. p. 174—186.) [Japanisch.]

Der Einfluß der Temperatur auf das Wachstum und die Sporangienbildung von Mucorarten wurde untersucht. 31 Arten wurden auf Kartoffeln kultiviert; darunter sind 25 schon bekannte Arten und 6 systematisch noch unbestimmte. Die Versuche wurden bei verschiedenen Temperaturen (10, 16, 32, 38° C) angestellt. I. Wachstum bei 38° C: Mucor pusillus, M. javanicus, M. erectus, M. Rouxii, M. I (Nakazawa), M. sp. (Y) 3, 9 und 49, Actinomucor repens. — II. Kein Wachstum bei 38° C: 1. Sporangienbildung bei 32° C und auch bei 10° C: Mucor griseo-cyanus, M. mandchuricus, M. strictus. — 2. Sporangienbildung bei 32° C, aber keine bei 10° C. Mucor alternans, M. circinelloides, M. circinelloides (Y) I, M. circinelloides (Y) II, M. dubius, M. plumbeus, M. Prainii, M. II (Nakazawa), M. sp. (Y) 1, 4 und 5. — 3. Sporangienbildung bei 10° C, aber keine bei 32° C: Mucor alpinus, M. flavus (Y), M. racemosus, M. saturninus, M. saturninus (Y). — 4. Keine Sporangienbildung bei 10° C und auch keine bei 32° C: Mucor hiemalis, M. Janseni, M. dimorphosporus. Autorreferat.

Korsakowa, M. P., Thiosulphatreduzierung durch Hefe. (Microbiology. Vol. 2. 1933. p. 251—259.) [Russisch.]

Aus einer Reihe von Erscheinungen geht hervor, daß Hefe die Fähigkeit besitzt, einige Stoffe, wie Methylenblau, Schwefel, Thiosulfat, Azeton und andere zu reduzieren. Zur Erklärung des Reduktionsprozesses lassen sich 3 Voraussetzungen machen: a) Wirkung des während der Gärung entstehenden aktiven Wasserstoffes. b) Reduzierende Einwirkung des Kohlenhydrates selbst oder irgendwelcher Übergangsprodukte bei der Gärung, während die Hefe nur den Prozeß aktiviert. c) Die Reduktion wird durch einen Stoff hervorgerufen, der, vom Typus des Glutathion, als Stoffwechselprodukt bei der Entwicklung der Hefe entsteht.

Die Untersuchung hatte die Aufgabe festzustellen, welche der 3 Hypothesen bei Reduktion von Hyposulfit mittels Hefe die annehmbarste sei, und zugleich, welches das Endprodukt des Reduktionsprozesses sei. Versuche mit Zuckergärung mittels reiner Hefe, mit Zusatz von Hyposulfit, zeigten, daß die Menge von H_2S nicht von der Menge des vergärten Zuckers abhängig ist. Der Reduktionsprozeß findet (obwohl schwach) selbst ohne Zucker statt, nur mit Hefe. Folglich ist der bei der Gärung befreite Wasserstoff nicht am Reduktionsprozeß beteiligt, wie auch zu erwarten stand, da im entgegengesetzten Fall der Wasserstoff, der mit anderen Stoffen in Verbindung tritt, aus der Gärungsreaktion ausgeschlossen würde, wodurch Störung des Gärungsprozesses einträte.

Die Thiosulfatreduktion findet ferner in unbedeutendem Maße statt, hängt folglich nicht von der Reduzierfähigkeit der Glukose selbst oder irgendwelcher Gärungsprodukte ab, da in letzterem Fall die Reduktion vollständig sein müßte, indem Hyposulfit, als nichtgiftig für Hefe, die Aktivierungsfähigkeit derselben nicht hemmen würde. Entscheidend für den Reduktionsprozeß ist die Menge der hinzugefügten Hefe. Je mehr Hefe, desto größer ist die Menge des reduzierten Hyposulfits. Es scheint, daß der Re-

duktionsprozeß unter dem Einfluß von durch die Hefezelle produzierten, reduzierenden Stoffen, z. B. Glutathion, verläuft.

Festgestellt wurde ferner, daß bei Konzentrationserhöhung der Hyposulfatlösung die Stärke des Reduktionsprozesses zunimmt, eine Erscheinung, deren Ursache bis jetzt noch nicht aufgeklärt ist.

Schwefelsaure Verbindungen lassen sich in keinem der Versuche feststellen; Sulfite wurden hin und wieder gefunden, aber nur in Spuren. Die Reduktion verläuft, wie es scheint, nach der Formel $Na_2S_2O_3 + 4\,H_2 = 2\,H_2S + 2\,NaOH + H_2O$. A. Imšenecki (Leningrad).

Tokin, B. P., Neues Material über den Einfluß der Ätheröle auf die Sprossung der Hefe Nadsonia fulvescens und auf die Entwickelung der Eier von Mollusca Physa fontinalis L. (Ztschr. f. Biol. Bd. 2. H. 1. 1933. S. 20—32.) [Russisch.]

Der Umstand, daß bei Experimenten mit mitogenetischen Strahlen die zerriebene Speisezwiebel (Allium cepa) häufig die Quelle der Ausstrahlung darstellt, veranlaßte den Verf., den Einfluß der ätherischen Öle der Zwiebel auf die Sprossung der Hefe zu untersuchen und zwar mit Ausschluß der Einwirkung mitogenetischer Strahlen. Aus den Versuchen ergab sich, daß der Einfluß kleiner ätherischer Öldosen im Verlauf von 3—10 Min. Zunahme des Prozentsatzes der Sprossung, nach der Methode v. Baron bestimmt, zur Folge hatte. Starke Dosen ätherischer Öle töten die Hefe. Gleichen Einfluß auf die Sprossung hatten ätherische Öle von Cochlearia armoracia und Achillea millefolium. In den Eiern des Moll. physa fontinalis trat die Bewegung des Embryo schneller ein, weiterhin gingen sie zugrunde.

Folglich ist die Zwiebel bei Untersuchung der mitogenetischen Strahlung hermetisch vom Detektor zu isolieren, da der chemische Einfluß des ätherischen Öles nur auf diesem Wege vermieden werden kann.

A. Imšenecki (Leningrad).

Lohmann, G., Nährstoffwirkung und Giftwirkung bei Aspergillus niger. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 31—56.)

Das Ertragsgesetz hat für die Wirkung der Nährstoffe ganz bestimmte Eigenschaften aufgezeigt, u. a. auch bei höheren Konzentrationen einen Schädigungs-Kurventeil, der mit einem Wendepunkt verläuft. Damit sollte nun einerseits die Wirkung des jetzt als Nährstoff geltenden Zink und anderseits die Wirkung zweifelloser Gifte, wie Phenol und Sublimat, verglichen werden. Zink zeigt vollkommen Nährstoffcharakter: es erfüllt die Nullbedingung, zeigt die Maximumverschiebung bei verschieden hoher Grunddüngung (die zeitliche Maximumverschiebung war allerdings wegen der frühen Lage des Maximums nicht nachzuweisen), zeigt den Wendepunkt im absteigenden Ast; ferner erweisen sich Zinkmengen, die bei schwacher Grunddüngung schädlich wirken, bei stärkerer als fördernd.

Diese letztgenannte Erscheinung findet sich nun bei Phenol und Quecksilber nicht; ferner unterschieden sich diese noch in folgender Weise: Während bei steigenden Zinkgaben zwar eine Hemmung in der Entwicklung zu beobachten ist, diese aber schließlich doch noch, bis zu einer gewissen Grenze, wenn auch nach Monaten erst einsetzt, entwickelt sich der Pilz bei Phenol und Quecksilber entweder innerhalb von 6 Tagen oder gar nicht. Im übrigen

zeigt der absteigende Ast bei diesen Stoffen keinen Unterschied gegenüber dem Schädigungsgebiet eines Nährstoffes. Da auch eine geringe Ertragssteigerung durch sie zu beobachten ist, kann jedenfalls in der Wirkung von Giftstoffen, wenn überhaupt einer, so nur ein äußerst geringer Unterschied gegenüber einer Nährstoffwirkung festgestellt werden.

Die Zink-Ertragskurven wiesen stets 2 Maxima auf, welche Erscheinung jedenfalls nicht auf äußere Fehler in der Versuchsanordnung zurückzuführen war. Rippel (Göttingen).

Philippow, G. S., Einfluß der Besäungsdichte auf die Entwicklung von Phycomyces nitens bei Bestrahlung mit Röntgen- und ultravioletten Strahlen. (Annal. Röntg. et Radiol. No. 1—2. 1933. p. 3—25.) [Russisch.]

Untersucht wurde der Einfluß der Besäungsdichte auf die geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung von Phycomyces nitens. Der Untersuchung wurden aus einer Spore gewonnene (+) und (—) Rassen von Phycomyces nitens unterworfen. Wässerige Sporenaufschwemmung von verschiedenem Sporengehalt in 1 ccm wurde auf Petri-Schalen ausgesät. Die Zahl der ausgesäten Sporen schwankte von einem Bruchteil bis zu einigen Tausenden Sporen auf 1 qcm der Oberfläche des Nährbodens. Die Höhe der Sporangienträger und die Größe der Sporangien erwiesen sich umgekehrt proportional der Besäungsdichte. Bei minimaler Dichte z. B. betrug die Höhe der Sporangienträger 12—16 cm, bei Besäungsdichte 5000 auf 1 qcm — 300 μ. Bei dichter Besäung reifen die zwerghafte Sporangien liefernden Kolonien während der ersten 20—30 Std., d. h. 3—10fach schneller als bei minimaler Besäung. Die vorzeitige Entwicklung der Reproduktionsorgane, der Sporangien, wird pathologisch nicht nur von Nahrungsmangel, sondern auch vom Einfluß schädlicher Stoffwechselprodukte stimuliert. Als Beweis dient, daß bei reichlichem Substrat sich gleiche Sporangien entwickeln und Hinzufügung von frischem Nährboden nur wenig Einfluß auf das Wachstum hat; ferner ist das Myzel degeneriert, die Sporen deformiert; ihre Keimfähigkeit gehemmt. Bei weniger dichter Besäung sind die Sporen von ellipsoider Form, homogen oder schwach gekörnt, bei überdichter Besäung rund, grobgekörnt und enthalten gelbbraunes Pigment. Obwohl sich die Form der Sporen stark verändert, bleibt, wie Berechnungen zeigen, die Masse der vitalen Substanz die gleiche — ein Umstand, der als Schutzreaktion gegen die Degeneration der Art anzusehen ist. Noch stärker ist der Einfluß der Besäungsdichte auf den geschlechtlichen Prozeß — bei mehr als 700—800 Sporen auf 1 qcm hört derselbe völlig auf. Bei allmählicher Abnahme der Besäungsdichte nimmt die Zygotenmenge stark zu und erreicht ihr Maximum bei 100 Sporen auf 1 qcm; wird die Besäung noch geringer, so nimmt die Zygotenzahl wieder ab. Der Vergleich der geschlechtlichen und ungeschlechtlichen Vermehrung zeigt, daß das quantitative Maximum der Zygoten- und der Sporangienbildung nicht zusammenfallen; während das Maximum der Zygotenbildung bei gewisser mittlerer Dichte eintritt, fällt das Maximum der Sporangienbildung auf maximale Besäungsdichte, woraus ersichtlich ist, daß die Funktionen der geschlechtlichen und ungeschlechtlichen Vermehrung sich antagonistisch verhalten. Wie Gewichtsbestimmungen der Sporangien und Zygoten beweisen, nimmt die Ergiebigkeit der Gesamtmasse der Kultur wie auch die Produktivität der einzelnen Sporen parallel der Zunahme der Besäungs-

dichte ab. Betreffs des Einflusses der Bestrahlung ist die Besäungsdichte von großer Bedeutung, indem bei überstarker Besäung die Bestrahlung scheinbare Stimulierung des Wachstums bewirkt, die, wie Verf. beweist, vom Untergang eines Teils der Individuen abhängig ist, infolgedessen die Entwicklung der übrigen bei günstigeren Bedingungen verläuft.

A. Imšenecki (Leningrad).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Zavagli, Vittorio, Zum Vorkommen und zur Bedeutung der Coli aerogenes-Keime in der Milch. (Ztschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. 45. 1933. S. 110—134.)

Verf. hat 2 Kulturflüssigkeiten ausgearbeitet, die die Gärfähigkeit durch Gas- und Säurebildung anzeigen und unter Förderung der Coli-aerogenes-Gruppe andere Milchkeime unterdrücken: 1. Eine Laktose-Fuchsinbouillon mit Bromthymol. 2. Eine Bouillon mit Malachitgrün, Laktose und Bromthymol. Die Milch wurde in abfallender Konzentration in die Reagenzgläser verimpft und 24 Std. lang bebrütet. Von den positiven Röhren wurde auf Schrägagar ausgestrichen, um evtl. eine weitere Differenzierung vorzunehmen. — Was die Häufigkeit von Coli-aerogenes-Keimen in Milch betrifft, so erhielt Verf. bei 100 Milchproben aus einem hygienischen Stalle 46 positive Befunde unmittelbar nach dem Melken, hingegen 81, wenn die Milch 24 Std. gestanden hatte. Von 30 Milchproben anderer Herkunft waren 25 mit Coli-aerogenes-Keimen infiziert gewesen. Es wäre keinesfalls am Platze, dem Coli-Vorkommen in der Milch eine ähnliche Bedeutung zuzumessen, wie dies beim Trinkwasser üblich ist. Hinsichtlich der Artverteilung auf Coli und Aerogenes wurde das Verhältnis 1 : 1 gefunden, während ein kleiner Rest nicht weiter bestimmt werden konnte. Zur Unterscheidung diente Gasbildung (Verhältnis von $H_2 : CO_2$), die Eijckmansche Gärprobe, Voges-Proskauer-Probe und Zitratvergärung. Die letzten beiden Proben ergaben fast durchweg identische Resultate. Als zulässige Grenzzahl für das Coli-Vorkommen in gewöhnlicher Milch ist nach Verf. 100 pro ccm, und in besserer, zum Rohgenuß bestimmter Milch 1—10 pro ccm zu betrachten. Weitere Untersuchungen ergaben, daß die Colikeime auch in einer dauerpasteurisierten Milch nicht restlos abgetötet werden, da manche in der Lage sind, einer Einwirkung von 63° C während ½ Std. zu widerstehen. In der Praxis können jedoch infolge besonderer Begleitumstände (Dichte des Suspensionsmittels, Schutz durch Fett, Konzentration der Bakterien) auch solche am Leben bleiben, die weniger resistent sind. Aus diesem Grund glaubt Verf., daß der Ermittlung des Coligehaltes als Indikator für wirksame Dauerpasteurisierung kein absoluter Wert zugestanden werden darf.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Seelemann, M. und **Hadenfeldt, A.,** Ergebnisse mehrjähriger Sanierungsmaßnahmen in galtverseuchten Milchviehbeständen der Provinz Schleswig-Holstein. (Milchwirtschaftl. Forschgn. 1933. 16. Bd. S. 101—147, 2 Textabb.)

Die Ergebnisse der sogenannten hygienisch-prophylaktischen Maßnahmen, durchgeführt in 5 Milchviehbeständen mit 177, 180, 60—70, 50 und 138 Kühen des rotbunten und schwarzbunten Schleswig-Holsteiner Schlages, waren trotz gering bemessener Untersuchungsabstände und straff

durchgeführter hygienischer Maßnahmen recht unbefriedigend, da selbst in zum Teil jahrelanger Arbeit der Prozentsatz an streptokokkeninfizierten Tieren zufolge vielfachen Auftretens von Neuinfektionen in nicht befriedigendem Maße herabgedrückt werden konnte. Einen erheblichen und wichtigen Anteil innerhalb der Sanierungsarbeiten stellte die aufklärende Tätigkeit des die Sanierung durchführenden Tierarztes dar. Die hygienischen Maßnahmen hätten unbedingt die Grundlage eines jeden Galtbekämpfungsverfahren zu bilden.

Der Einschaltung der Chemotherapie (Entozonbehandlung) in sechs größeren Beständen war es zu verdanken, daß der Prozentsatz an streptokokkenkranken Tieren in stärker verseuchten Herden wesentlich schneller herabgedrückt werden konnte als durch hygienische Maßnahmen allein. Zur Erhaltung des günstigen Standes war allerdings eine fortgesetzte Überwachung in Form von häufig wiederholten Einzelgemelkprüfungen notwendig. Wenn auch die Sanierung in keinem Falle restlos gelungen ist, so war doch eine so weitgehende Besserung in der Erkrankungsziffer und des Eutergesundheitszustandes zu verzeichnen, daß in einigen Beständen sogar eine deutliche Steigerung der Milchleistung zustande kam.

Bezüglich der „Rezidive" wurde die eigenartige Wahrnehmung gemacht, daß beim größten Teil derselben nicht mehr die typisch wachsenden sondern die Bouillon trübenden Streptokokken isoliert wurden. Dies auch in den Fällen, wenn vor der Behandlung nur die sog. typischen Formen nachgewiesen wurden. Es war auch auffallend, daß nach Einleitung der hygienischen Maßnahmen allein oder einschließlich der chemotherapeutischen Behandlung auch bei Neuinfektionen typisch wachsende Galtstreptokokken längst nicht mehr in dem Umfange nachgewiesen werden konnten wie atypische. Die Angaben Diernhofers konnten bestätigt werden, wonach von der Peripherie atypisch wachsender Streptokokkenkolonien auf Agarplatten „Büschel" herauswachsen, die in Bouillon das vollkommen typische Wachstum des echten Galtstreptococcus ergeben. Wird dagegen von dem übrigen Teil derselben Kolonie in Bouillon abgeimpft, so erhält man immer nur das trübe („atypische") Wachstum.

H. Mossel (Weihenstephan).

Hammer, B. W., and Collins, The numbers of lipolytic bacteria in various dairy products, as determined with nile-blue sulfate. (Iowa Agr. Exp. Sta. Research Bull. 169. 1934. p. 75—92.)

Milch und verschiedene Milcherzeugnisse wurden mit dem von Turner angegebenen Nilblausulfat-Nährboden quantitativ auf Gehalt an Fettspaltern untersucht; bei der Butter wurde besonders auf die evtl. Beziehungen zu der Ranzigkeit geachtet. Die Ergebnisse waren folgende:

1. Rohmilch und Süßrahm: Die Zahl der Fettspalter in Milch schwankte von ca. 100—30 000 pro ccm, bei Rahm zeigte sich mit der steigenden allgemeinen Keimzahl auch eine zunehmende Zahl an lipolytischen Organismen. 2. Ungesalzene Butter aus Rohrahm, 7, 30 und 42 Tage bei 6° C aufbewahrt: Die Gesamtzahl der Organismen schwankte von 216 000 bis 119 Mill., die Zahl der Fettspalter von 56 000 bis 8,6 Mill. Bei der zweiten Prüfung waren von den 17 Proben 13 ranzig, die Gesamtkeimzahl schwankte von 350 000 bis 20 Mill., während die Zahlen der Fettspalter von weniger als 10 000 bis 5,5 Mill. variierten. Unter den nicht ranzigen Proben waren auch solche, die hohe Fettspalterzahlen aufwiesen. Es bestand also keine direkte Beziehung zwischen der Menge der fettspaltenden Organismen und der Ranzigkeit. In solchen Fällen, wo Ranzigkeit ohne nennenswerte Fettspalter-Keimzahlen beobachtet

wurde, glauben Verff. an eine Wirkung der ursprünglichen in der Milch vorhandenen Lipase. 3. Leicht gesalzene frische Butter guter Qualität, 1—2 Wochen bei 0—10° C aufbewahrt: Die Gesamtkeimzahl schwankte von 3000 bis 1,5 Mill., die der lipolytischen Keime von 1000—40 000 pro g. Im allgemeinen zeigte sich, daß frische Butter guter Qualität relativ wenig fettspaltende Kleinlebewesen beherbergt. 4. Ungesalzene Butter aus pasteurisiertem Rahm, 7 Monate bei 0° C gelagert, wobei der Rahm in einem verwahrlosten Butterfertiger gebuttert worden war: Alle Proben waren ranzig und zwei käsig. Die Gesamtkeimzahlen der gelagerten Butter schwankten von 90 000 bis 135 Mill., die Zahlen der Fettspalter von 6000 bis 12 Mill. pro g. Der vorherrschende Typ war Pseudomonas fragi. Es fanden sich auch sehr schlechte Proben, die verhältnismäßig wenig lipolytische Keime beherbergten. 5. Fehlerhafte, wahrscheinlich aus pasteurisiertem Rahm hergestellte Handelsbutter verschiedener Herkunft: Von 23 Proben waren nur 16 als mit Fettspaltern infiziert beobachtet worden, die auch in alter schlechter Butter mitunter nur in sehr geringen Mengen vertreten waren. Die schlechte Qualität dieser alten Butter war durch eine große Zunahme der Fettspalter zu einem früheren Zeitpunkt ursächlich bedingt gewesen. Der Beweis hierfür konnte auch in einem künstlichen Impfversuch mit sterilem verbutterten Rahm erbracht werden. 6. Engere Beziehungen der Gesamtkeimzahl zum ersten Auftreten von Ranzigkeit konnten nicht festgestellt werden, desgleichen wurde eine große Variabilität in der Wirkung künstlich eingeimpfter fettspaltender Bakterien nachgewiesen. 7. Das Wachstum der Fettspalter an der Oberfläche von ungesalzener Butter geht rascher vor sich als in den tieferen Partien. 8. Salzempfindlichkeit einiger fettspaltender Bakterien: 19 von 23 wuchsen in 5,0proz. Salzbouillon, 12 in 6,25proz., 2 in 7,5proz. und 1 (ein Mikrokokkus) in 12,0proz. Die Fluoreszenten zeigten eine große Wandelbarkeit in der Salztoleranz, während Achromobacter lipolyticum gleichmäßig salztolerant war. 9. Die Untersuchung von ranziger Milch einzelner Kühe ergab, daß solche Milch sehr im Gehalt an fettspaltenden Kleinlebewesen schwankt, daß es aber nicht angebracht ist, ohne weiteres die Ursache des Fehlers einem hohen Lipasegehalt der Milch als solchen zuzuschreiben. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Gratz, Otto, Versuche zur Verhinderung der Schmelzkäseblähung auf biologischem Wege. (Deutsche Molkerei-Zeitung. 1934. 55. Jahrg. S. 85—88, 1 Abb., 3 Tab.)

In mehreren Versuchen wurde untersucht, ob sich in einem Schmelzkäse, der mit geblähtem, Bac. amylobacter enthaltenden Schmelzkäse beimpft worden war, durch Zusatz von Milchzucker (1,2—2,2%) und Impfung mit Milchsäurebakterien (Streptococcus lactis, Streptococcus thermophilus, Thermobact. helveticum und Thermobact. yoghurt) in Mengen von 2—50% die Blähung durch Anaerobier verhindern läßt. Die Ergebnisse fielen sehr unterschiedlich aus. Selbst Zusätze von 50% Milchsäurebakterienkulturen konnten nicht in allen Fällen die Blähung verhindern. Es ergibt sich, daß auch mit dieser Methode die Schmelzkäseblähung nicht sicher unterbunden werden kann. H. Mossel (Weihenstephan).

Kostyrko, D. S. und **Marjasch, L. U.,** Die Mikroflora der Soja und ihre Rolle in der Technologie der Sojaprodukte. (Schr. d. Zentr. Bioch. Forschungsinst. d. Nähr.- u. Genußmittelind. Bd. 2. H. 9. 1933. S. 431—435.) [Russisch.]

Von der Oberfläche der Sojabohnen wurden isoliert: Bact. lactis acid. Leich., Bact. coli comm., Bact. neapolitanum Emm., Bact. comm. Holl., Bac. mesentericus, Bac. megatherium, Bac. perfringens u. a. Nur die Kulturen von Bac. perfringens und B. coli riefen in flüssigem Sojasubstrat starke Gärung hervor. Beim Verfertigen von Sojaprodukten sind die Bohnen,

um der Entwicklung der Mikroorganismen Einhalt zu tun, in fließendem Wasser zu wässern. Sterilisierte Sojamilch wird nach Impfung mit Bact. coli-Kultur nach 2½ Std. bei 37° C unbrauchbar. Milchsäure-Bakterien rufen bei dieser Temperatur die Gerinnung der Milch in 6—10 Std. hervor. Daher sind bei Bereitung milchsaurer Produkte aus Sojamilch reine Kulturen und von Bact. coli völlig freie Milch anzuwenden. Fäulnis und Zuckerzersetzung in der Sojamilch treten anfangs unter dem Einfluß von Bact. coli und Bac. perfringens ein, im weiteren üben auch sporenbildende Bakterien schädlichen Einfluß auf das Eiweiß aus (Bac. megather., Bac. mesentericus). In anbetracht dessen ist Pasteurisieren und Tyndalisieren unzweckmäßig und nur Sterilisation zu empfehlen.

A. Imšenecki (Leningrad).

Kostyrko, D. S., Herstellung von Produkten der Alkohol- und Milchsäuregärung aus Sojamilch. (Schrift. d. Zentr. Biochem. Forschungsinst. d. Nahr- u. Genußmittelind. Bd. 2. H. 9. 1933. S. 437.) [Russisch.]

Zur Bereitung von saurer Milch wurde sterilisierte Sojamilch mit einer Kultur von Bact. lactis acidi Leich. geimpft, welche in der Milch eine Säurebildung bis 91° T. entwickelt.

Weniger günstig ist die Anwendung von Bact. acidificans longissimus. Wird Sojamilch, die einen Zusatz von 1,5% Saccharose erhalten hat, mit einer Mischung von aus Kefir isolierter Torula und Bact. lact. acidi Leich. geimpft, so erhält man bei 20° C nach 48 Std. ein Produkt, das Ähnlichkeit mit Kefir hat. Gemischte Kulturen von Weinhefe und der obenerwähnten Milchsäure-Bakterien gaben ein Produkt, das mit Kumys Ähnlichkeit hat, und bis 9% Alkohol enthielt.

A. Imšenecki (Leningrad).

Kühl, H., Die Stärkegewinnung im Sauerverfahren. (Chemiker-Ztg. Bd. 57. 1933. S. 633—634.)

Zur Lösung der Eiweißkörper in den Mehlen von Gramineensamen und damit zur Isolierung der Stärke durch Milchsäure kann man sich mit Vorteil des Yoghurtbildners, Bacterium bulgaricum, bedienen, dessen Wachstumsoptimum bei 45—48° C, also so hoch liegt, daß das Aufkommen anderer Keime wesentlich erschwert wird, was bei Verwendung anderer Milchsäurebildner nicht in gleichem Umfang der Fall ist, weil deren Optimaltemperaturen zu tief liegen. Besonders vorteilhaft ist auch, daß das Bacterium bulgaricum Malzzucker nur wenig, Milchzucker dagegen stark säuert. Ein laktasereicher Nährboden ist in den Molken gegeben. Die Verwendung von Molkenkulturen zur Stärkegewinnung ist um so mehr gegeben, als die Säuerung bei Aufschließung des Gärgutes durch Variierung des Impfmaterials reguliert werden kann. Verf. ist es durch Verwendung dieses Bakteriums gelungen, die Stärke in vorzüglicher Qualität verlustlos zu gewinnen. Die anfallenden, eiweißreichen Abwässer stellen gewissermaßen eine Yoghurtmilch dar, die zur Herstellung wertvoller diätetischer Futtermittel Verwendung finden kann. Heuß (Berlin).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Stepanowa, M. L., Bakterienzahl im Dünger bei verschiedener Aufbewahrung desselben. (Microbiology. Vol. 2. 1933. p. 277—284.) [Russisch.]

Beim Aufbewahren des Düngers geht unter dem Einfluß von Bakterien

ein wesentlicher Teil seiner Bestandteile verloren, besonders Stickstoff. Zur Feststellung der günstigsten Aufbewahrungsart für Dünger wurden Bakterien im Dünger, der verschieden aufbewahrt wurde, bestimmt. Die Bestimmung bestand in mikroskopischer Zählung der Bakterien in 1 proz. Düngermischung im Wasser.

Der untersuchte Dünger wurde aufbewahrt: a) nach Krantz, in geschlossenem Raum; b) nach Krantz, offen; c) nach der kalten oder festen Methode; d) in Haufen; e) nach Krantz, geschlossen, mit Zusatz von 25% Torf.

Vorteilhaft erwies sich die Aufbewahrung in geschlossenem Raum — 17,5 Milliarden Bakterien auf 1 g Dünger; ferner die kalte Methode — 32,6 Milliarden, und am unvorteilhaftesten war die Aufbewahrung im Haufen — 90,6 Milliarden. Diese Ergebnisse sind völlig übereinstimmend mit den Trockensubstanzverlusten bei verschiedenen Aufbewahrungsmethoden. Zusatz von Torf übte keinen wesentlichen Einfluß auf die Entwicklung der Bakterien aus. Entscheidende Momente sind Temperatur und Luftzutritt; am günstigsten sind Methoden, die stärkere anaerobe Bedingungen und geringere Erhitzung bieten. A. Imšenecki (Leningrad).

Makrinoff, I. A., Vermehrung des Azotobacters und Stickstoffanhäufung bei Zersetzung pflanzlicher Überreste. (Arch. Sciences Biologiques. T. 33. No. 3—4. 1933. p. 367—379.) [Russisch.]

Zerkleinertes Haferstroh wurde mit heißem Wasser (70—75°) abgewaschen und in ein Gefäß gebracht, das Wasser mit Zusatz von K_2HPO_4 0,1%, $MgSO_4$ 0,05% und $CaCO_3$ 0,3% enthielt, darauf mit aeroben Zellulosebakterien und Azotobacter geimpft. Die Gefäße wurden bei 18—20° und freier Luftzufuhr aufbewahrt. Zu Beginn des Versuches betrug die Zahl der Azotobacterzellen einige Zehn auf 1 g trockenen Strohs, jedoch schon nach 8 Tagen zählten sie nach Hunderttausenden. Gleichzeitig wurde auch starke Vermehrung der Zellulosebakterien festgestellt. Anatomische und mikrochemische Untersuchung der Haferhalme nach 3 Wochen ergab völligen Schwund der Zellulose (negative Chlorzinkjod-Reaktion). Bei Zählung der Azotobacterzellen waren auf der Oberfläche der Halme nur einzelne größere Zellen zu finden, während Bruchstücke kleine Zellen in bedeutender Menge enthielten. Die zellulosezersetzenden Bakterien gehörten vornehmlich zu den Gattungen Cytophaga und Vibrio. Andere Mikroorganismen — Pilze und Bakterien — traten verhältnismäßig selten auf. Die Azotobakterzahl steigt bei diesen Bedingungen ununterbrochen und kann 693 Millionen auf 1 g völlig trockener Halme erreichen. Die Azotobakterzellen vermehren sich anfangs auf Kosten der gelösten Kohlehydrate und Pektinstoffe der Halme, im weiteren liefern die Zellulosebakterien, indem sie die Zellulose zersetzen, den Zellen neuen Nährstoff. Nach völliger Zersetzung der Zellulose hört die Vermehrung der Azotobakterzellen auf. Anderseits bilden auch die Stoffwechselprodukte des Azotobakters eine Stickstoffquelle für die Zellulosebakterien.

Bei Feuchtigkeitsabnahme der Halme, Luftzutritt und 20—22° C tritt die zweite Zersetzungsphase ein, in welcher, unter dem Einfluß verschiedener Pilze, die weitere Zersetzung der Strohhalme erfolgt. Die Zählung der Zellen ergibt weitere Vermehrung des Azotobakters, im Durchschnitt erreicht die Zahl der Zellen 950 Millionen auf 1 g trockener Halme. Die

chemische Analyse ergab, daß das Stroh nach der zweiten Phase dreifach mehr Stickstoff enthält, als die Kontrollehalme.

A. Imšenecki (Leningrad).

De'Rossi, G., La fixation de l'azote élémentaire dans le sol. — II. Les Azotobacters dans les différents terrains d'Italie. (Soc. Intern. di Microbiol. — Boll. della Sez. Italiana. Vol. 4. 1932. S. 219—226.)

Der Azotobactergehalt verschiedenster Böden aus ganz Italien von insgesamt 189 Proben wurde ohne Rücksichtnahme auf ihre chemische und anderweitige biologische Beschaffenheit durch Auszählen der Kolonien auf Kieselsäuregel- und Agarnährböden bestimmt. Es ergab sich, daß durchschnittlich die Böden Norditaliens verhältnismäßig reich, diejenigen des mittleren Italiens um die Hälfte ärmer und diejenigen Süditaliens noch ärmer an Azotobacter sind. 43 Proben enthielten dieses Bakterium überhaupt nicht und in einem Boden Norditaliens (Brescia) wurde die höchste Zahl von Azotobacterzellen (21 400 je g trockenen Bodens) gefunden.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Chemische Werke vorm. H. & E. Albert, Verfahren zur Herstellung organischer Düngemittel. (D.R.P. 573 036, vom 9. März 1933.)

Das wesentliche Merkmal der Erfindung besteht darin, daß tierisches oder pflanzliches Ausgangsmaterial oder ein Gemisch beider mit Phosphorsäure, vorzugsweise roher verdünnter Phosphorsäure, unter Anwendung erhöhter Temperatur und/oder erhöhten Druckes einer teilweisen Hydrolyse unterworfen wird, so daß für die Entwicklung der Bodenbakterien und der Pflanzen besonders günstige Abbauprodukte vom Typ der Aminosäuren, Albumosen, Peptone, höheren organischen Säuren, Zucker und ähnlicher Verbindungen entstehen. — Weiterhin (D.R.P. 586 743) wird empfohlen, bei der sauren Hydrolyse des Ausgangsmaterials solche oxydierend wirkenden Metallverbindungen zuzusetzen, die nach erfolgter Umsetzung als am Aufbau der Pflanze teilnehmende oder das Pflanzenwachstum fördernde Stoffe in dem hergestellten Düngemittel verbleiben.

Limbach (Leipzig).

Pfarrius, G., Verfahren zur Herstellung eines Mittels zum Fördern des Pflanzenwuchses. (D.R.P. 579 573, vom 15. Juni 1933.)

Das neue Verfahren besteht darin, daß eine aus trockenem Torf (im Gegensatz zu Rohmoor) und Düngemittellösungen, ferner auch aus solchen Stoffen, die Bodenbakterien enthalten oder die Bakterientätigkeit des Bodens anregen, bestehende Mischung unter hohem Preßdruck (ca. 130—150 kg/qcm) zu handlichen Formkörpern von möglichst geringem Volumen zusammengepreßt werden. Durch diesen hohen Druck ergibt sich nach Verf. eine überraschende kolloidchemische Wirkung dahingehend, daß sonst fast wasserunlösliche Humusbestandteile des Torfes wasserlöslich werden. Dies bedeutet indessen nichts anderes als das Umwandeln der rohen Torfsubstanz in bodengaren Humus. Limbach (Leipzig).

Ehrenberg, C., Verfahren zur Herstellung eines stickstoffreichen Humusdüngemittels. (D.R.P. 581 558, vom 13. Juli 1933.)

Humusstoffe, wie Torf, Kohlenhumus, Braunkohle, Steinkohle oder

dgl., werden mit Kohlensäure und Ammoniak bzw. mit kohlensäure- und ammoniakhaltigen Gasen oder Flüssigkeiten unter einem Druck von beispielsweise 40 at und bei einer Temperatur von etwa 200° behandelt und in streufähige Form übergeführt. Auf solche Weise wird ein für das Gedeihen der Bodenbakterien besonders günstiges Humusdüngemittel erhalten.
Limbach (Leipzig).

Bach, H., Verfahren zur Herstellung eines Düngemittels aus Torf und Abwasserklärschlamm. (D.R.P. 572 901, vom 2. März 1933.)

Setzt man einem Schlamm-Torf-Gemisch von vornherein so viel Kalk zu, daß das bakterielle Leben unterbunden und damit die Säuerung ausgeschlossen wird, so könnte ein so stark alkalisches Material dem zu düngenden Boden schädlich sein, weil die nützlichen Bodenbakterien durch den hohen Alkaligehalt geschädigt werden könnten. Bei einem nur einmaligen Zusatz von Kalk oder einem anderen Alkali bis zu $p_H = 7{,}2$ bis 8,0 würde die Ausreifung des Gemisches Schlamm-Torf außerordentlich lange dauern, weil bei den einschlägigen biologischen Vorgängen die Überwindung des sauren Gärstadiums sehr lange Zeit in Anspruch nimmt. Deshalb schlägt Verf. vor, das alkalisierte Klärschlamm-Torf-Gemisch, in Gruben oder in Haufen geschichtet, durch weitere, in angemessenen Zeitabständen stattfindende Zusätze von alkalischen Stoffen in dem Bereiche von $p_H = 7{,}2$ bis 8,0 dauernd zu erhalten. Limbach (Leipzig).

Howard, A., The Waste Products of Agriculture: Their Utilization as Humus. (Journ. Roy. Soc. Arts. Vol. 82. 1933. p. 84—121.)

Eine Abhandlung mit Ergebnissen aus verschiedenen tropischen Gebieten über das nach seinem Ursprungsort genannte Indore-Verfahren zur Ausnützung aller Arten tropischen Abfallmaterials durch Kompostierung mit Stalldünger und Urin. Eine Beschreibung des Verfahrens selbst findet man auch in dem Buch von A. Howard und Y. D. Wad unter demselben Titel, London 1931. Nicol (Rothamsted).

Cholodny, N. G., A soil chamber as a method for the microscopic study of the soil microflora. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. 148—156.)

Verf. beobachtete bei der direkten mikroskopischen Untersuchung des Bodens mittels eingegrabener Objektträger, daß sich Mikroorganismen insbesondere in kleinen Bodenhohlräumen am Glas entwickelten. Er konstruiert nun einen kleinen Apparat, mit dem man eine etwa 1 mm dicke homogene Bodenschicht zwischen Objektträger und Deckglas bringen kann, die in der Mitte einen etwa 4 mm breiten Hohlraum besitzt. In diesem entwickeln sich auf der Innenseite des Deckglases Mikroorganismen, welcher Vorgang unmittelbar mikroskopisch verfolgt werden kann. Es konnte z. B. zuerst die Entwicklung von Pilzen beobachtet werden, denen Bakterien und sonstige Mikroorganismen folgten. Die Methode wird eine wertvolle Ergänzung der mikroskopischen Bodentechnik sein. Rippel (Göttingen).

Staehelin, M. und Porchet, B., Contribution à l'étude de la désinfection partielle du sol en culture maraîchère et horticole. (Annuaire agricole de la Suisse. 1933. p. 761—796.)

Je intensiver eine Gärtnerei betrieben wird, um so mehr muß sich wegen der rasch aufeinanderfolgenden Kulturen eine vorübergehende Bodensterilisation in Gewächshäusern und Aufzuchtbeeten als notwendig erweisen. Es wurde deshalb untersucht, mit welchen Mitteln dieses Ziel am besten erreicht werden kann, d. h. die pflanzenpathogenen Pilze möglichst gründlich vernichtet und andererseits die mikrobiologischen Umsetzungen im Boden am wenigsten gehemmt werden. Als Desinfektionsmittel kamen fast nur Chemikalien zur Anwendung, und zwar hauptsächlich Formaldehyd, Uspulun, Essigsäure, Schwefelkohlenstoff, Terpur und Kaliumsulfokarbonat. Beobachtet wurde vornehmlich ihre fungizide Wirkung, ihr Einfluß auf Keimung und Wachstum der Pflanzen, gegebenenfalls auch Stimulationserscheinungen, und dann die Beeinflussung der wichtigeren Bodenbakterien und zellulosezersetzenden Mikroorganismen. Auf Grund dieser Untersuchungen, die im Laboratorium, Gewächshaus und Freiland ausgeführt wurden, und die noch nicht abgeschlossen sind, muß Formalin als das in jeder Beziehung geeignetste der geprüften Desinfektionsmittel bezeichnet werden. Die Deutung der Wirkungen verschiedener Gifte auf Cytophagen ist nicht stichhaltig, da es sich hier z. T. um Symbiosen gehandelt haben dürfte. Pflanzenpathogene Bakterien wurden in die Untersuchungen nicht mit einbezogen. Bezüglich weiterer Einzelheiten muß auf das Original verwiesen werden. Bortels (Berlin-Dahlem).

Waksman, S. A., Hotchkiss, M., and Carey, C. L., Marine bacteria and their rôle in the cycle of life in the sea. II. Bacteria concerned in the cycle of nitrogen in the sea. (The Biol. Bull. Vol. 65. 1933. p. 137—167.)

Bakterien, die am Kreislauf des N im Meere beteiligt sind, wurden aus Bodenschlamm und Wasser verschiedener Herkünfte isoliert und auf ihre Leistungsfähigkeit hin untersucht. Nitrit- und Nitratbildner sind auf Grund dieser Untersuchungen fast ausschließlich auf dem Grunde und niemals in den oberen Schichten des Meerwassers tätig. Wichtig ist in diesem Zusammenhang, daß sich die nitrifizierenden Bakterien im Laboratorium in den Flüssigkeitskulturen nur dann entwickelten, wenn diese frischen Sand oder Schlamm des Meeres enthielten. Nitratreduzierende Bakterien wurden dagegen sowohl in Wasser als im Bodenschlamm vorgefunden. Von ihnen sind die echten Denitrifikatoren, die gasförmigen N freimachen, vornehmlich im Schlamm anzutreffen. Jedoch ist ihnen keine besondere Bedeutung als begrenzender Faktor in der NO_3-Versorgung der Pflanzen beizumessen, weil es diesen Bakterien an einer ausreichenden geeigneten Energiequelle fehlen dürfte. Der Schlammhumus ist hierzu jedenfalls nicht geeignet. Stickstoffbindende Bakterien wurden in großer Zahl in Seewasser und -schlamm aufgefunden, in diesem die anaeroben Clostridien, in jenem die Azotobacterarten, die aber nicht nur an der Oberfläche sondern bis hinunter auf den Meeresboden vorkommen. Ob auch andere in N-freien Lösungen isolierte Bakterienarten fähig sind, den Luftstickstoff zu binden, soll noch ermittelt werden. In den ursprünglichen Anreicherungskulturen, welche die verschiedensten N-bindenden Mikroorganismen enthielten, wurden z. T. ganz ansehnliche Mengen N gebunden, in den mit einer vom Meeresboden stammenden Rohkultur von Azotobacter chroococcum beimpften Lösungen dagegen nur verhältnismäßig wenig.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Link, G. K. K., Etiological phytopathology. [Ätiologische Pflanzenpathologie.] (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 843—862.)

Mit dieser inhaltsreichen Abhandlung bezweckt Verf., gegenüber der früheren, fast ausschließlich auf die Parasiten und nichtbelebten pathogenen Außenfaktoren gerichteten Forschung in der Pflanzenpathologie eine Ätiologie zur Geltung zu bringen, die dem gesamten Ursachenkomplex pathischer Vorgänge Rechnung trägt und somit auch die Innenfaktoren einbezieht. Er erörtert den Begriff der Ätiologie mit einem interessanten historischen Überblick und behandelt sodann ausführlich die inneren oder konstitutionellen pathogenen Faktoren: die genetische Konstitution, den Vorverlauf und korrelative Einflüsse, die Disposition und geht dann kürzer auf die pathogenen unbelebten und belebten Außenfaktoren ein. Besonders dargestellt werden noch Infektion und Parasitismus, wobei auch die geschichtliche Entwicklung dieses letzteren Begriffs bis auf die neueste Zeit verfolgt wird. Schließlich wird gezeigt, wie die sich ergebende Einteilung aller pathogenen Faktoren auch als Einteilung der Krankheitsvorgänge und der Bekämpfungsmaßnahmen verwendbar ist.

Die Schrift schließt vielfach an eine frühere des Verf.s (The rôle of genetics in etiological plant pathology. Quart. Rev. Biol. Vol. 7. 1932. p. 127—171) an und ist als einer der seltenen Beiträge zur allgemeinen Pflanzenpathologie von einer Bedeutung, die wohl erst eine spätere Zeit gebührend würdigen wird. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Stevens, N. E., Some significant estimates of losses from plant diseases in the United States. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. 975—984.)

Verf. geht davon aus, daß die einfachen Methoden der Schadenschätzung durch bloßes Vermuten der Größe der Ernteverluste und Umrechnung in Geldwert nach dem augenblicklichen Verkaufspreis selbst für die Propaganda nicht mehr zulässig sei, da nicht alle Verluste durch Krankheiten die gleiche Bedeutung für den Markt haben. Geldverluste durch Obst- und Gemüsefäulen sind z. B. viel größer als der prozentuale Mengenverlust. Anderseits bringen Verluste durch Krankheiten im Ackerbau gewöhnlich nur eine Ernteminderung mit sich, die den Markt nicht ebensosehr berührt, wie den Erzeuger, und die im Extrem sogar schon als Ausgleich gegen Überproduktion angesehen worden ist. Der Geldwert von Ernteverlusten läßt sich daher nicht auch nur annähernd genau abschätzen.

1916 führte der Pflanzenkrankheitsüberwachungsdienst in den Vereinigten Staaten eine gesamtstaatliche Schätzung der Ernteverluste ein. Meldungen der örtlichen prozentualen Verluste im Lande werden von Pathologen gesammelt und zentral verarbeitet; die Schätzung geschieht dabei nach % der Gesamternte in Gewichtseinheiten. Die Ernteminderung errechnet man, indem die Jahresproduktion = 100 — den Prozentsatz des Verlustes durch Krankheiten gesetzt wird. Die geschätzten durchschnittlichen Verlustprozente für U.S.A. erhält man durch Dividieren der Gesamternteminderung infolge aller Krankheiten durch die Summe der bekannten Produktion + geschätzter Ernteminderung. 1931 wurde dann noch eine Reihe von Karten und Tabellen bearbeitet, die die vollständigsten Meldungen über einige verbreitete und gut bekannte Krankheiten umfaßte.

Davon sind diejenigen über Weizenstinkbrand, Pfirsichbraunfäule, Lagerfäule der Süßkartoffeln wiedergegeben und erläutert. Kürzere Angaben folgen noch über Holzfäulen und eine besonders auffällige Beeinflussung der Kronsbeerenerzeugung durch Krankheit (false-blossom disease).

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Zolk, K., Rentabilität der Obstbaumbespritzungen in Estland. (Mitt. Versuchsstat. ang. Ent. Univ. Tartu. Nr. 25. 1933. 8 S.) [Esthn. m. dtsch. Zusfssg.]

Es wird berechnet, daß viermalige Bespritzung der Obstbäume in Estland je Baum nur 0,77 RM. (0,69 Ekr.) kostet, wenn die erste Bespritzung vor der Begrünung mit Obstbaumcarbolineum und 3 weitere mit Calciumarseniatbrühe erfolgen, wobei je Baum jedesmal 5—6 l Spritzbrühe verbraucht werden. Weiter wird berechnet, daß der Wert der an einem unbehandelten Baum durchschnittlich geernteten Äpfel 12,79 RM. beträgt (30% Abfallware), an einem behandelten Baum dagegen 21,33 RM.; der Mehrertrag beläuft sich hiernach auf 7,77 RM. Das Carbolineum wird in Estland hergestellt. K. Friederichs.

Herbst, F. B., Airplane liquid spraying. (Journ. econom. Entomology. Vol. 26 6. 1933 12. p. 1052—1053, 4 pl.)

Bereits sind etwa 900 ha Feld und Gärten in Nordamerika vom Flugzeug aus mit mischbaren Ölen nebst Zusätzen wie Pyrethrum, Nikotin oder Fungiciden behandelt worden. Die Behandlung hatte den gewünschten Erfolg gegen verschiedene Pilzkrankheiten, Thrips, Schildläuse, Zirpen. Es scheint nur Öl in Frage zu kommen, da wässerige Lösungen verdunsten, bevor sie die Pflanzen erreichen. Die Maschinerie wird kurz gekennzeichnet und ihre quantitativen Leistungen werden angegeben. Das Öl wird fein vernebelt. Die Vorteile der Methode gegenüber dem Spritzen von unten her sind mannigfach; sie bestehen u. a. darin, daß nicht durch das Umherfahren von Maschinen in der Pflanzung (etwa Zwiebelkulturen) Zerstörungen angerichtet werden; es kann zu gleicher Zeit Bewässerung stattfinden usw. Die Kosten sind erträglich. Windiges Wetter stört das Verfahren. Es ist besonders da angebracht, wo Eile nottut. K. Friederichs.

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Appel, O., Tomatenkrankheiten. (Dtsche. Landw. Presse. Jahrgang 60. 1933. S. 247, 1 Taf.)

Die vorliegende der bekannten im Verlag Parey erscheinenden Tafeln stellt die wichtigsten Tomatenkrankheiten und besondere Fruchtfäulen dar. Gemalt wurden die Bilder nach Angaben von H. Pape von A. Dressel. Dargestellt werden: Kraut- und Fruchtfäule, verursacht durch Phytophthora infestans, Fruchtfäule verursacht durch Fusarium acuminatum, Stiel- und Fruchtfäule verursacht durch Phoma destructiva, Fruchtfäule verursacht durch Macrosporium tomato, Fruchtfäule verursacht durch Botrytis cinerea und Risse in der Frucht, die infolge nasser Witterung nach längerer Trockenheit entstanden. Der Text bringt kurze Beschreibungen und Angaben über die Bekämpfung der Krankheiten.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Pape, H. und Rademacher, Findet der Übergang des Mehltaues auf Sommergerste allgemein statt. (Dtsche. Landw. Presse. Jahrg. 60. 1933. S. 281—282.)

Durch Aussäen von verschiedenen Sommergerstensorten neben Wintergerste konnte festgestellt werden, daß die Sommergerste zuerst in der Nähe der Wintergerste befallen wurde. Verff. konnten ferner beobachten, daß verletzte Blätter weniger als unverletzte vom Mehltau befallen wurden. Auch im praktischen Betriebe konnten die Beobachtungen bestätigt werden, daß der Befall von Sommergerste bei größerer Entfernung von Wintergerste weniger als in der Nähe befallen waren. Verff. warnen daher in gefährdeten Gegenden vor dem Anbau von Sommergerste in der Nähe von Wintergerste. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Young, V. H., and McClelland, C. K., Control of oat smut. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 825—830.)

Die Behandlung von flugbrandhaltigem Hafer erfolgte 1931 mit Ceresan, das als wirksame Substanz Äthylmercurichlorid enthält, Dubay Nr. 952 K mit 2%, Dubay Nr. 952 C mit 1% Äthylmercuritartrat, Dubay Nr. 500 LL mit 1% Äthylmercuriarsenat, Merko mit einer anorganischen Quecksilberverbindung, Corona Oat dust mit Formaldehyd und Corona Nr. 174 E mit einer löslichen organischen Quecksilberverbindung. 1932 kam nur das Mittel Dubay Nr. 1134 mit 2,5% Äthylmerkuriphosphat als wirksame Substanz und Formaldehyd im Tauchverfahren hinzu, dagegen wurden in diesem Jahre Merko und Corona Nr. 174 E, die sich 1931 als nicht bzw. wenig wirksam erwiesen hatten, fortgelassen. In beiden Jahren wurde außerdem noch eine 10proz. Lösung von Jod in Schwefelkohlenstoff verwendet, und zwar so, daß ½ Unze Jod auf 1 Bushel kam. Von dem Trockenbeizmittel wurden 3 Unzen auf 1 Bushel gegeben. Die Behandlung in einem Faß dauerte 5 Min. Alle Mittel, mit Ausnahme der genannten: Merko und Corona Nr. 174 E, beseitigten den Brand vollkommen oder bis auf Spuren. Der Befall bei unbehandelt betrug etwa 20%. Die Behandlung mit Jod war 1931 genügend wirksam, 1932 dagegen nicht. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Klebahn, H., Über Bau und Konidienbildung bei einigen stromatischen Sphaeropsideen. (Phytopath. Ztschr. Bd. 6. 1933. S. 229—304.)

Verf. entdeckte auf kranken Douglastannen 4 neue Phoma-ähnliche Pilze (Allantophoma endogenospora, A. exogenospora, A. nematospora, Phomopsis microspora), die er insbesondere bezüglich der Konidienbildung einer eingehenden Untersuchung unterzog. Besonders bemerkenswert ist der Nachweis, daß bei der erstgenannten Art die Konidien im Innern der Zellen des „Kerngewebes" entstehen und durch Auflösung der Membran frei werden, wie solches für andere Pilze von Laubert und von v. Höhnel gelegentlich beobachtet worden war. Beim gleichen Pilz wurde daneben auch Konidienbildung durch Aussprossung festgestellt. Bei anderen ihm morphologisch fast völlig gleichen Pilzen scheint Aussprossung die einzige Art der Konidienbildung zu sein. — Es folgen dann anatomische Untersuchungen an Phomopsis abietina, dem Pilz der Einschnürungskrankheit der Weißtanne, ferner an 10 Pilzen der Sclerophoma-Gruppe. U. a. wurde die Beobachtung v. Höhnels über die endogene Konidienbildung bei Pilzen der morphologischen Art Sclerophoma pityophila bestätigt. — Die Gattung Dothichiza Libert wurde bereinigt. Dabei ergab sich, daß die als Schädling der Pappeln wichtige Dothichiza populea aus der Gattung aus-

zuscheiden hat; sie ist mit Dothiorella populea und Cytosporella populi identisch. — Die Zugehörigkeit eines Sclerophoma nahestehenden Konidienpilzes zu Dothiora sorbi wurde wahrscheinlich gemacht. E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Hemmi, T., Experimental studies on the relation of environmental factors to the occurrence and severity of blast disease in rice plants. (Phytopath. Ztschr. Bd. 6. 1933. S. 305.)

Ein zusammenfassender Bericht über die vom Verf. und seinen Mitarbeitern ausgeführten Untersuchungen über die durch Piricularia Oryzae Br. et Cav. verursachte Krankheit des Reis, die in Japan als die verheerendste Krankheit dieser Pflanze anzusehen ist. Die individuelle Anfälligkeit der Reispflanze steht in engster Beziehung zur Bodentemperatur. Die Blätter von Sämlingen, die bei verschiedenen Bodentemperaturen aufgezogen wurden, zeigten das Maximum der Resistenz bei 28°. Bei 32° war die Resistenz erheblich geringer. Bei Temperaturen von 28° abwärts nimmt die Resistenz ab und ist am geringsten bei 20°. Bei 28° Bodentemperatur befindet sich das Entwicklungsoptimum der Reispflanze, bei 20° ist ihre Entwicklung gestört. Offenbar wird also durch die jeweilige Bodentemperatur die Struktur der Blätter und damit ihre Krankheitsdisposition maßgebend beeinflußt. Bei der als seedling blight oder foot-rot bezeichneten Fußkrankheit der Sämlingspflanzen liegt das Resistenzmaximum bei 32° (Boden- und Lufttemperatur). Es wurde nachgewiesen, daß diese Krankheitsform durch Infektion vom Boden aus zustande kommen kann. Dabei ist die Bodenfeuchtigkeit von ausschlaggebender Bedeutung, indem im trockensten Boden die höchste Befallsziffer erreicht wird. Im trockenen Boden gewachsene Reispflanzen sind auch anfälliger als im feuchten Boden gewachsene; dies beruht vorzugsweise auf der erhöhten Einlagerung von Silikaten in den Zellwänden der letzteren. Weitere Versuche befaßten sich mit folgenden Fragen: Benetzungsdauer und Temperatur in ihrer Bedeutung für den Infektionsvorgang, Wirkung von Sonnenschein und relativer Luftfeuchtigkeit auf diesen Vorgang, sowie Physiologie des Erregers.

E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Kostoff, D., and Kendall, J., Studies on plant tumors and polyploidy produced by bacteria and other agents. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 4. 1933. S. 487—508.)

Bekanntlich können Tumore an Pflanzen durch Chemikalien erzeugt werden; sie treten ferner spontan bei Hybriden, z. B. von Nicotiana-Arten, auf. Verff. fanden, daß die von Bacterium tumefaciens hervorgerufenen Tumore weitgehend mit jenen übereinstimmen, namentlich in der mangelnden Differenzierung und dem Auftreten der Polyploidie, die Verff. darauf zurückführen, daß die Viskosität des Cytoplasmas erhöht und die Bewegung der Chromosome erschwert ist. Gelingt ihre Teilung, so kann doch die Zellteilung ausbleiben, und doppelkernige Zellen können entstehen.

Bei der weiten Verbreitung von B. tumefaciens und der erwähnten Wirkung auf die Chromatinsubstanz sprechen die Verff. diesem Bakterium eine Bedeutung bei der Entstehung neuer Arten zu.

Rippel (Göttingen).

Abgeschlossen am 11. Juni 1934.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 90. No. 14/19.
Ausgegeben am 10. August 1934.

Nachdruck verboten.

Zur Methodik der Keimzahlbestimmung von Azotobacter im Boden.

[Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien.]
Von **Hans Wenzl.**

Mit 4 Abbildungen im Text.

I. Literaturübersicht.

Bei der großen praktischen Bedeutung der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch freilebende Mikroorganismen ist es verständlich, daß man sich schon bald nach deren Entdeckung nicht mit der Feststellung des Vorhandenseins oder Fehlens dieser Mikroben begnügte, sondern den Vorgang der Stickstoffbindung im Boden auch quantitativ zu erfassen suchte in Abhängigkeit von Standort, Klima und Jahreszeit, sowie unter dem Einfluß einer künstlichen Änderung der chemischen Zusammensetzung und der Struktur des Bodens durch Düngung und Bodenbearbeitung.

Besonders Azotobacter chroococcum hat stets im Vordergrund des Interesses gestanden, obwohl er in vielen Böden der Zahl nach hinter dem anaeroben Clostridium zurückstehen dürfte, wie beispielsweise die neueren Untersuchungen von Fehèr (1933) zeigen.

Zwei Wege scheinen gangbar: **Aktivitätsbestimmungen,** Bestimmungen des von einer bestimmten Bodenmenge gebundenen Stickstoffs im Boden im unveränderten Zustand oder in Proben, die durch Zugabe einer brauchbaren Kohlenstoffquelle (Mannit) und durch Schaffung eines optimalen Wassergehaltes und günstiger Temperaturverhältnisse optimale Bedingungen für die Stickstoffassimilation bieten. Eine weitere Möglichkeit ist die früher viel verwendete Bestimmung der Stickstoffbindung in elektiven Nährlösungen nach Beimpfung mit einer größeren Bodenmenge.

Der zweite Weg, die **Bestimmung der Keimzahl,** wurde bei den Untersuchungen über Azotobacter im Boden weit weniger oft eingeschlagen; in ausgedehnterem Maße wird die Methode erst seit etwa 10 bis 15 Jahren verwendet.

Soviel auch gegen die Keimzahlbestimmung eingewendet werden mag, der Grundgedanke besteht doch sicherlich zu Recht, daß die Zahl einer bestimmten Mikroorganismenart im Boden die Lebensbedingungen und bis zu einem gewissen Grad auch die Intensität der durch diese Mikroben bewirkten biochemischen Umsetzungen wiederspiegelt — mit einer Einschränkung: Es muß nicht immer der momentane Zustand sein, der in der Keimzahl zum Ausdruck kommt, es kann auch der eines vorhergehenden, bessere Lebensbedingungen bietenden Zeitabschnittes sein. Das gilt nicht nur für sporenbildende Formen, sondern auch für Azotobacter, der resistentere dickwandige Formen auszubilden vermag, so daß längere ungünstige Perioden mindestens von einem Teil der Zellen überdauert werden können.

Die wiederholte Erfahrung, daß bei Beimpfung der für Azotobacter elektiven Beijerinckschen stickstofffreien Nährlösung mit weniger als 0,1 g Boden nur sporadische und schlechte Deckenbildung eintrat, wonach also der Azotobactergehalt des Bodens minimal wäre, erweckte gegen die Keimzahlbestimmung mit Hilfe verdünnter Bodensuspensionen in ihrer Anwendung auf Azotobacter Mißtrauen. Schon Beijerinck (1901) hatte diese Beobachtung gemacht, die von Gerlach und Vogel (1902), Löhnis (1904) und Heinze (1905) bestätigt wurde. Löhnis fand mit der Verdünnungsmethode in einem Ackerboden neben einigen Millionen peptonzersetzenden, vielen Tausend nitrifizierenden und denitrifizierenden nur etwa 20 stickstoffassimilierende Bakterien. Wie Löhnis lehnt auch Krzemieniewski (1906) die kombinierte Verdünnungs-Elektivmethode ab, da die „stickstoffbindende Kraft" durchaus nicht immer mit den durch die Verdünnungsmethode festgestellten Zahlenwerten übereinstimmte. Die Berechtigung, die Bestimmung der „stickstoffbindenden Kraft" als Standardmethode hinstellen zu dürfen, blieb aber unbewiesen. Nachdem man aber beim Studium der Tiefenverteilung von Azotobacter im Boden, sowie bei der Untersuchung der jahreszeitlichen Schwankungen bedeutende Unterschiede in der Stickstoffbindung von Bodenproben feststellen konnte, schien die Brauchbarkeit dieser Methode bewiesen.

Demgegenüber verdienen die ausgedehnten kritischen Studien von Gainy (1923) Beachtung. Wie die folgende Zusammenstellung zeigt, konnte nur in 88% der Proben, in denen sich in Beijerinckscher Nährlösung Azotobacter zumindest mikroskopisch nachweisen ließ, Stickstoffbindung festgestellt werden, eine gute Deckenbildung zeigte sich allerdings nur in 67% aller Proben (76% der Proben, die Stickstoffbindung zeigten).

Zahl der Proben	Stickstoffbindung in Beijerinck-Lösung	Deckenbildung in Beijerinck-Lösung	Positiv bei mikroskopischer Prüfung
90	51	46	52
60	46	37	47
114	60	43	69
154	42	26	59
418	199	152	227

Die Deckenbildung ist von einer Reihe von Faktoren abhängig, kann daher nicht als alleiniges Kriterium für das Vorhandensein von Azotobacter in Rohkulturen angesehen werden. Auch ein nicht sehr starkes Wachstum von Formen, die morphologisch Azotobacter entsprechen, in stickstofffreier Nährlösung genügt für den Nachweis von Azotobacter, wie auch aus meinen Versuchsergebnissen hervorgeht.

Gegen die Methode der Aktivitätsbestimmung erhebt sich übrigens ein schwerwiegender Einwand, worauf bei Darlegung meiner Versuchsergebnisse näher eingegangen werden soll. Die Unterschiede im Keimgehalt und in der Stickstoffbindung, wie sie am Standort vorhanden sind, können bei Verwendung von Nährmedien, die eine Verbesserung der Lebensbedingungen und eine Beschleunigung der Umsetzungen bedingen, weitgehend verwischt werden.

Zur **quantitativen Keimzahlermittlung** im Boden stehen mehrere Methoden in Verwendung:

Die Methode von Winogradsky **zur direkten Beobachtung** der Bakterien im Boden wurde von anderer Seite auch zur quantitativen Azotobacterbestimmung herangezogen.

Dianowa und Woroschilowa (1931) setzen sich mit dieser Methode kritisch auseinander. Schon ein prinzipieller Einwand entwertet die Methode sehr stark: Neben den lebenden Zellen werden auch die toten mitgezählt. Schon in früheren Arbeiten russischer Autoren (zit. bei Dianowa) waren die sehr bedeutenden Differenzen zwischen den Ergebnissen der direkten Zählung im Boden und der Untersuchung auf Gelplatten aufgefallen. Bei „Azotobacter"-Keimzahlen bis zu 188 Millionen pro Gramm Boden bei direkter mikroskopischer Untersuchung, wuchsen auf Gel überhaupt keine oder nur sehr wenige Kolonien an. Dianowa konnte aus Böden eine Reihe azotobacterähnlicher Mikroorganismen isolieren, die aber weder auf festen noch in flüssigen stickstofffreien Medien wuchsen, also nicht Azotobacter waren. Die direkte mikroskopische Untersuchung des Bodens ist also zur quantitativen Bestimmung von Azotobacter vollständig unbrauchbar.

Fehèr (1932) hat eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung von Bodenbakterien, speziell von Azotobacter, beschrieben, die die Tendenz verfolgt, die Bestimmung unter Bedingungen durchzuführen, die den natürlichen möglichst nahekommen. Der zu untersuchende Boden wird mit gereinigtem Feinsand zu gleichen Teilen vermischt und zur Abtötung auch der resistenten Sporen mehrmals unter Überdruck erhitzt. Dieses Gemenge, das durch die hohe Luftkapazität eine gute Durchlüftung gewährleistet, wird in Reagenzgläser bis zur halben Höhe eingefüllt und mit verdünnten Suspensionen des zu untersuchenden Bodens beimpft. Nach 3—4 Wochen werden die einzelnen Röhrchen auf das Vorhandensein von Azotobacter nach der Plattenmethode geprüft. In den „Untersuchungen über die Mikrobiologie der Waldböden" wurde diese Methode noch nicht verwendet, auch von anderer Seite ist sie meines Wissens noch nicht überprüft worden. Zweifellos bedeutet sie einen Fortschritt.

Über die Brauchbarkeit der **Plattenmethode** (als **Ausguß-** oder als **Aussaatmethode**) und der **Elektivkultur in Nährlösungen** nach dem Prinzip der Beimpfung mit fortschreitend verdünnten Suspensionen sind die Meinungen der Autoren sehr geteilt.

Die **Elektivkultur in Nährlösungen** wird vielfach verworfen, da sie für Azotobacter ungünstige anaerobe Bedingungen schaffe. Am schärfsten wendet sich Winogradsky (1926, 1928) gegen die Verwendung von Flüssigkeitskulturen zur Azotobacterbestimmung, ohne irgendwelche entscheidende Versuche zu bringen. Mehr als „une valeur historique" will Winogradsky diesem Verfahren nicht zubilligen, jede Brauchbarkeit wird dieser Methode abgesprochen.

Aus vielfacher Erfahrung ist bekannt, daß nur bei Elektivkultur in niedriger Flüssigkeitsschicht gutes Wachstum und reichliche Stickstoffbindung eintritt, nicht aber in hoher Schicht. Gerlach und Vogel (1902) fanden folgende Werte für die Stickstoffbindung (Milligramm pro Liter Lösung):

In 1 cm hoher Schicht (Erlenmeyerkolben): 16—20 mg.

In 15 cm hoher Schicht (1 Liter-Rundkolben): 5 mg.

Baumgärtel und Hartung (1927) verglichen die Deckenbildung in verschieden hoher Schicht der Lösung. Während bei einer Höhe von 8 mm die Gasbildung unbedeutend war und eine sehr schöne Decke gebildet wurde, trat bei 15 mm eine schlechtere Deckenbildung, bei stärkerer Gasbildung durch die geförderten Anaeroben ein.

Ob aber der aerobe Charakter des Azotobacter so ausgeprägt ist, daß auch bei Verwendung geringer Schichtdicken ein Teil der Zellen nicht zur Entwicklung gelangt und bei geringer Zellenzahl — etwa mit stark verdünnter Bodensuspension — ein Nichtvorhandensein von Azotobacter nur vorgetäuscht wird, wurde bisher nur in zwei, in dieser Hinsicht allerdings ziemlich unbekannt gebliebenen Arbeiten vergleichend mit der **Plattenmethode** untersucht. Überraschend ist, daß beide Arbeiten zugunsten der Elektivkultur in Lösungen sprechen. Düggeli (1924) fand, daß „nur ein bescheidener Prozentsatz, etwa $^1/_{10}$ der durch die Verdün-

nungsmethode in Nährlösungen (Schichthöhe 1 cm) nachgewiesenen Azotobacterkeime auf Agar (Gußkulturen), der die gleichen Stoffe wie die Nährlösung enthielt, zur Kolonienbildung schritt". Stöckli (1929) konnte in einer eingehenden Arbeit bei der vergleichenden Untersuchung von 86 azotobacterführenden Böden auf Mannitagarplatten nur in 64%, mit der Elektivkultur in Nährlösung in 83% der Böden Azotobacter feststellen. In dem Rest der Böden, in denen auch mit der Beijerinckschen Elektivmethode der direkte Nachweis nicht gelang, konnte erst nach Anreicherung im Boden, der nach dem Durchfeuchten mit Beijerinckscher Nährlösung in Petrischalen gelagert wurde, Azotobacter nachgewiesen werden. Besonders auffallend aber ist, daß insgesamt die Beijerincksche Elektivkultur in einer noch etwas höheren Zahl der Bodenproben (71 gegen 69) den Nachweis von Azotobacter erlaubte als die Anreicherungskultur in Erde mit folgendem Nachweis auf Mannitagarplatten.

Dennoch ist die Plattenmethode, die nach eigenen Versuchen der Kultur in Flüssigkeit nicht viel nachsteht, zur Bestimmung von Azotobacter sehr viel verwendet worden, meist in Form von Agargußplatten, neuerdings auch durch die Bemühungen von Winogradsky (1926) in Form von stark selektiv wirkenden Kieselgelplatten, auf die (nach Winogradsky) der zu untersuchende Boden aufgestreut wird. 1 g Boden wird auf der Oberfläche der Platte (etwa 310 qcm) fein verteilt; auf die Herstellung verdünnter Bodensuspensionen wird verzichtet. Winogradsky (1926, 1928) findet mit dieser Methode wohl charakteristische Unterschiede zwischen verschiedenen Böden; da aber keine feinere Zerteilung des Bodens stattgefunden hat, ist es mehr als fraglich, ob jeder aufkommenden Kolonie auch nur eine Kolonie im natürlichen Boden entspricht — auf die Feststellung der Keimzahl, wie sie nach stärkerem Schütteln der Suspension doch annähernd erfaßt werden kann, verzichtet Winogradsky von vornherein. Curie (1930, 1931) kehrt, der einfacheren Herstellungsweise wegen, wieder zur Agarplattenmethode zurück. Es wird aber nicht nach dem Gußverfahren gearbeitet, sondern die Böden werden durch ein feines Sieb auf die Oberfläche des erstarrten Agars verteilt. Agar zeigt sich zwar etwas weniger selektiv, aber die Azotobacterkolonien sind von den anderen leichter zu unterscheiden als auf Kieselgel (nach Curie).

Es ist einerseits fast eine Selbstverständlichkeit, muß aber anderseits doch betont werden, daß die auf dem möglichst stickstofffreien Gel angewachsenen Kolonien durchaus nicht nur von Azotobacter stammen. Wieder bringt Stöckli für Mannitagar nähere Angaben: Neben typischen Kolonien, die nach mindestens 10 Tagen braun oder schwarz werden, finden sich in großer Zahl noch andere glashelle, wässerige oder schleimige Oberflächen- und Tiefenkolonien. Folgende Zahlen (pro Gramm Boden aus Erdanreicherungskulturen) zeigen, wie stark die atypischen Kolonien überwiegen können.

	„Typische" Kolonien	„Atypische" Kolonien
A)	36 000 000	4 000 000
B)	150 000	54 000 000
C)	0	14 000 000

Viele Angaben in der Literatur, bei denen das Aussehen der Kolonien nicht berücksichtigt wurde, wo nur Zahlen für die Gesamtheit der angewachsenen Keime angegeben sind, müssen daher mit großer Vorsicht aufgenommen werden.

Aus der mir zugänglichen Literatur seien einige Werte für Keimzahlen von Azotobacter im Boden wiedergegeben (pro 1 g Erde):

Löhnis (1904)	20	Elektive Nährlösung	Acker
Düggeli (1924)	bis 150 000	„ „	Äcker, Wiesen
	auf Agarplatten $^1/_{10}$ der Menge		

Fehèr (1933)	0—10 000	Elektive Nährlösung	
Winogradsky (1926) .	100—500	Kieselgelplatten	Kulturböden
Jones u. Murdoch (1919)	bis 1000	Agarplatten	,,
Stöckli (1929)	bis 3000	,,	natürliche Bestände
Schwartz-Müller) (1931)	bis 780 000	,,	Ackerböden

Bei den Angaben von Schwartz-Müller ist auffallend, daß diese hohen Azotobacter-Keimzahlen für einen Boden mit einem ph = 5,5 gelten sollen. Wahrscheinlich wurden nicht nur die Azotobacter-Kolonien gezählt.

II. Eigene Untersuchungen.

Die Zielsetzung der vorliegenden Untersuchungen liegt in erster Linie in der Aufklärung der Frage nach der Brauchbarkeit der Flüssigkeitskulturen zum quantitativen Nachweis von Azotobacter im Boden. Vor allem schien die Abhängigkeit der Deckenbildung von der Schichthöhe durch die beiden Versuche von Baumgärtel und Hartung durchaus noch nicht restlos geklärt und bedurfte — wie die Ergebnisse zeigen — der Ergänzung. Auch die Resultate der Untersuchungen von Düggeli und Stöckli, in denen die Agarplattenmethode gegenüber der Methode des Nachweises von Azotobacter mit Flüssigkeitskulturen auffallend schlecht abschnitt, ließen einen neuerlichen Vergleich der beiden Methoden wünschenswert erscheinen. Eine dritte Untersuchungsreihe ergab sich mit Notwendigkeit im Anschluß an die neue Methode von Fehèr zur quantitativen Bestimmung von Bodenbakterien, in der eine möglichste Anpassung der Versuchsbedingungen an die natürlichen Verhältnisse im Boden angestrebt wird.

In allen genannten Arbeiten, in denen die Verdünnungsmethode mit elektiver Nährlösung angewandt worden war, wurde stets eine streng definierte, synthetische stickstofffreie Nährlösung verwendet, mit Mannit als Kohlenstoffquelle und den notwendigen Nährsalzen (Phosphate, Sulfate, Chloride, Kalziumkarbonat), evtl. noch unter Zugabe von Eisen, Aluminium und Mangan. Mit der Verwendung von Eisen-, Aluminium- und Mangansalzen deutet sich bereits die Tendenz an, den Untersuchungsergebnissen über die Notwendigkeit bestimmter Stoffe für Wachstum und Stickstoffbindung von Azotobacter zu entsprechen.

Bekannt ist die auffallende Wirkung naturlicher Humusstoffe, die vor allem durch das absorbierte Eisen und wahrscheinlich auch noch durch andere Stoffe bedingt ist (Burk, 1932 a, b). Bortels (1930) hebt neuerdings die große Bedeutung des Molybdäns hervor. Die Wirkung einzelner Faktoren ist noch recht umstritten, vielfach bestehen große Widersprüche. Unbestritten aber ist die Wirkung natürlicher, wenig gereinigter Humate, unumstritten ist vor allem auch die günstige Wirkung des natürlichen Bodens, vor allem auf die Ausbildung einer starken charakteristischen Kahmhaut, die in Reinkulturen in gewöhnlicher synthetischer Nährlösung nicht oder nur durch Zugabe bestimmter Stoffe zu erreichen ist.

Es muß das Ziel jeder mit Nährlösungen arbeitenden Bestimmungsmethode sein, eine möglichst gute Deckenbildung zu erreichen, da die Erkennung von Azotobacter dadurch erleichtert wird.

Die so allgemein bekannte Erscheinung der Deckenbildung durch Azotobacter in gut wachsenden Rohkulturen kann wohl heute als weitgehend geklärt angesehen werden, wenn auch wohl noch nicht alle Faktoren bekannt sind, die bei diesem Phänomen zusammenwirken. Gutes Wachstum und hohe Stickstoffbindung müssen nicht immer mit der Ausbildung einer starken Kahmhaut parallel gehen. Beijerinck (1901) und Stoklasa (1908) führen die Ausbildung der dicken Kahmhäute in Erdrohkulturen auf die Wirkung der begleitenden Mikroorganismen zurück. Kaserer (1911) findet, daß nur bei Gegenwart von Eisen und Aluminium

in zusagender Form auch in Reinkulturen Deckenbildung eintritt. Remy und Rösing (1911) finden neben Eisen auch Aluminium und Kieselsäure ausschlaggebend. Zusatz natürlicher Humussäuren soll Deckenbildung bewirken, wie auch an und für sich unwirksames künstliches Humat nach Beigabe von Eisen- und Aluminiumphosphat. Söhngen (1913) und Prazmowsky (1913) bestätigten die Wirkung von Rohhumuslösung, Kieselsäure und Eisen. Schröder (1931) hat die Frage nach der Deckenbildung ganz besonders eingehend untersucht. Neben Eisen und Kieselsäure wirken auch Wolfram, Molybdän, Zink und Kupfer auf die Deckenbildung. Anderseits aber wirkt sich die Zugabe von Radiobacter zu einer Reinkultur von Azotobacter nicht nur in einer Förderung der Stickstoffbindung, sondern auch in der Ausbildung einer guten Kahmhaut aus. Stapp und Ruschmann haben schon 1925 feststellen können, daß Azotobacter reinkulturen in Flüssigkeiten durch Radiobacter, durch Bac. radicicola und einen mit Azotobacter zusammen vorkommenden Gärungserreger zur Deckenbildung angeregt wurden, während ein anderes Bakterium nur eine ganz geringe Wirksamkeit aufwies.

Neben Humus, Kieselsäure und anderen in der Erde in kleinsten Mengen vorkommenden Substanzen, die in den Versuchen die Deckenbildung fördernd gefunden wurden, begünstigen somit auch Mikroorganismen, die im Boden stets als Begleiter von Azotobacter vorkommen, Wachstum und Deckenbildung in Nährlösungen. Nach den vorliegenden Untersuchungen scheint sich der mikrobielle und der chemische Faktorenkomplex nicht nur ergänzen, sondern auch weitgehend ersetzen zu können, was mit Hinblick auf unsere Fragestellung von größter Bedeutung ist.

Wie bereits betont wurde, ist die neue Methode von Fehèr sicherlich als ein großer Fortschritt in der quantitativen Mikrobenanalyse des Bodens zu werten. Die Anwendbarkeit scheint ziemlich unbeschränkt. Daß Fehèr bei seiner Methode, soweit es sich um den Nachweis von Azotobacter handelt, völlig auf die Zugabe einer Kohlenstoffquelle und der nötigsten im Boden nicht immer in genügender Menge vorhandenen Salze (Phosphat!) verzichtet, geht sicherlich aus dem Bestreben hervor hervor, möglichst natürliche Verhältnisse zu bieten, scheint mir aber, nachdem schon von mehreren Seiten der günstige Einfluß solcher Zusätze in Erdanreicherungskulturen erkannt wurde (Stöckli, Winogradsky), ein Nachteil, der sich aber nicht in einer Erniedrigung der nachweisbaren Keimzahl, sondern nur in einer Verlängerung der Versuchsdauer auf die angegebene Zeitspanne von 3—4 Wochen auswirken muß. Mit der anschließenden Untersuchung auf Agarplatten kommt man auf die doch recht lange Zeit von 4—5 Wochen, was natürlich nicht gegen den Wert der Methode spricht, sich bei Serienuntersuchungen aber unangenehm bemerkbar machen kann. Auch die doppelte Untersuchung bedeutet eine starke zeitliche Belastung.

Auf den bisherigen Erfahrungen aufbauend, schien es nötig, die Auswirkung eines Zusatzes von sterilisierter Erde und von natürlichen Humussubstanzen in Nährlösungen hinsichtlich der nachweisbaren Azotobacterkeimzahlen zu prüfen. Die bekannte günstige Wirkung von Erd- und Humusstoffen ließ den Gedanken nicht unberechtigt erscheinen, daß bei Prüfung hochverdünnter Erdsuspensionen auf ihren Azotobactergehalt bei Gegenwart dieser Substanzen vereinzelte Azotobacterkeime, die in der reinen synthetischen Nährlösung möglicherweise nicht mehr zu Vermehrung und Kolonienbildung hätten schreiten können, dennoch zum Wachstum und damit zum Nachweis gebracht werden. Anderseits aber schien es durchaus nicht unmöglich, daß bei vergleichender Prüfung der beiden Methoden kein „quantitativer" Unterschied auftreten müsse, sondern nur ein qualitativer, der sich bloß in der Wachstumsintensität, nicht aber in der nach-

weisbaren Keimzahl auswirkt, da die begünstigende Wirkung der in den Bodensuspensionen stets vorhandenen Begleitbakterien eben nicht auszuschalten ist. Eine Entscheidung konnte nur der Versuch bringen.

1. Versuche über Wachstum und Deckenbildung von Azotobacter in Flüssigkeitsrohkulturen in Abhängigkeit von der Schichthöhe der Nährlösung.

Wie in der Literaturübersicht dargelegt, lehnt Winogradsky mit Rücksicht auf den aeroben Charakter von Azotobacter die Verwendung von Flüssigkeitskulturen zur Feststellung des Vorhandenseins von Azotobacter im Boden schroff ab, ohne entsprechende Versuche angestellt zu haben.

Schon die üppige Deckenbildung in Flüssigkeitsrohkulturen läßt Bedenken aufsteigen gegen die Winogradsky sche Behauptung, die durch die folgenden leicht wiederholbaren Beobachtungen noch verstärkt werden. Die — soweit beobachtet werden konnte — stets vorhandene, wenn auch manchmal sehr schwache Gasbildung bewirkt eine ziemlich starke Durchmischung der Flüssigkeit. Die aus dem Erdbodensatz in Flüssigkeitskulturen aufsteigenden Gasbläschen nehmen fast regelmäßig kleine Erdpartikelchen mit sich, die dann je nach ihrer Größe und ihrem Gewicht früher oder später wieder absinken. Jedenfalls steht den mit den Erdpartikelchen in die oberen Schichten oder gar an die Oberfläche getragenen Azotobacterkeimen dort genügend Sauerstoff zur Verfügung, es kann üppiges Wachstum und Deckenbildung einsetzen. Daß Azotobacter sauerstoffbedürftig ist, steht jedenfalls fest. Die Frage ist die, ob auch schon bei Verwendung geringer Schichthöhen (0,5—1 cm) die verfügbare Menge Sauerstoff so gering wird, daß vorhandene Azotobacterkeime unter den Bedingungen der Rohkultur nicht mehr zur Entwicklung gelangen und sich so dem Nachweis entziehen.

Versuche über Azotobacterwachstum und Deckenbildung bei Variation der Höhe der Flüssigkeitsschicht müssen Auskunft geben, inwieweit sich die „schlechte" Sauerstoffversorgung in Flüssigkeitskulturen auf das Wachstum von Azotobacter und seine Nachweisbarkeit auswirkt.

Die Versuche wurden in 250 ccm-Erlenmeyerkolben ausgeführt. Die bei diesen und allen weiteren Versuchen verwendete Nährlösung enthielt auf 1000 Teile Leitungswasser: 20 Mannit, 0,75 K_2HPO_4, 0,3 $MgSO_4$, 0,2 NaCl, 0,02 $FeSO_4$, 0,02 $Al_2(SO_4)_3$ und 5 $CaCO_3$ (zur Neutralisation eventuell gebildeter Säure).

Die folgende Zusammenstellung gibt eine Übersicht über die verwendeten Schichthöhen, die entsprechenden Volumina Nährlosung und die Größe der Oberflächen. Bei stärkerer Füllung verringert sich die Fläche, durch die der Gasaustausch möglich ist, immer mehr.

Höhe der Flüssigkeit in cm	Volum ccm	Oberfläche qcm
0,5—0.6	15	50
1,0—1,1	35	50
2,0	80	50
3,5	140	33
6,5	230	16

Die Versuche wurden in 2 Reihen ausgeführt: Die erste mit der synthetischen Nährlösung ohne Erdzusatz, die zweite mit einem Zusatz von 10 g lufttrockener Erde pro Kolben. In der Reihe mit der geringen Schichthöhe von 0,5 cm wurde mit Rücksicht auf das geringe Volum der Nährlösung nur 7 g Erde verwendet. Zur Vernichtung der darin vorhandenen Azotobacter-Keime wurde die mit der Erde ver-

sehene Nährlösung einmal eine halbe Stunde lang im Dampfsterilisator erhitzt. Die Sporenbildner wurden durch diese Behandlung selbstverständlich nicht abgetötet. Die Erde, die als Zusatz zur Nährlösung Verwendung fand, war eine karbonathaltige gute Gartenerde von ph 7,6 und ziemlich hohem Azotobacter-Gehalt (10 000 bis 20 000 pro Gramm lufttrockener Erde). Die eine Hälfte der Kolben wurde mit je 2 g frischer Erde beimpft (entspricht 1.75 g lufttrockener Erde), die andere Hälfte erhielt nur den 200. Teil (0,01 g frische Erde). Die Impferde stammte aus der gleichen Probe wie die als Zusatz verwendete, einmal sterilisierte.

Auch in allen weiteren Versuchen stammt die als Zusatz verwendete Erde aus derselben Probe, die im lufttrockenem Zustand aufbewahrt wurde. Die als Impferde verwendete wurde selbstverständlich immer erst am Tage der Verwendung eingeholt.

Jeder Versuch wurde in 2 Parallelkulturen aufgestellt. Die Übereinstimmung war fast immer sehr gut. Die Tabellen enthalten nur die Durchschnittswerte. Das Wachstum von Azotobacter ist in der folgenden Weise wiedergegeben:

\+ kaum sichtbares Hautchen von Azotobacter,
\+ + dünne Decke,
\+ \+ + mittelstarke Decke, die meist auch bereits die charakteristische Runzelung zeigt,
\+ + + + starke Decke,
\+ + + + + sehr starke Decke;
! geringe Trübung der Losung durch Azotobacter,
!! deutliche Trübung,
!!! sehr starke Trübung.

Wenn Deckenbildung eingetreten ist, wird die Trübung der Lösung nicht mehr berücksichtigt und auch nicht wiedergegeben.

0 ganz vereinzelte kleine Gasblasen,
00 wenige Gasblasen,
000 mittelstarke Gasbildung,
0000 starke Gasbildung,
00000 sehr starke Gasbildung.

An Hand der Abbildungen werden die obigen Angaben für Deckenbildung und Gasblasenansammlung anschaulicher werden.

„Rg" bedeutet in den Tabellen, daß Wachstum und Deckenbildung von Azotobacter bereits den Höhepunkt überschritten haben und die Decke bereits im Zerfall begriffen ist.

„br" bedeutet, daß Bräunung der Decke (bzw. des Azotobacter in der Nahrlösung) eingetreten ist. Der Hohepunkt der Azotobacterentwicklung ist durch das Zeichen △ angedeutet.

Die vorliegenden Versuche geben nicht nur Aufschluß über die Abhängigkeit des Wachstums und der Deckenbildung von der Schichthöhe, sondern sie zeigen auch die Wirkung eines Erdzusatzes.

Schon nach 3 Tagen zeigten sich zwischen den Kolben mit den verschiedenen Schichthöhen bedeutende Unterschiede, die in Reihe I (mit Erdzusatz, 2 g-Impfung) am bestenausgeprägtwaren.

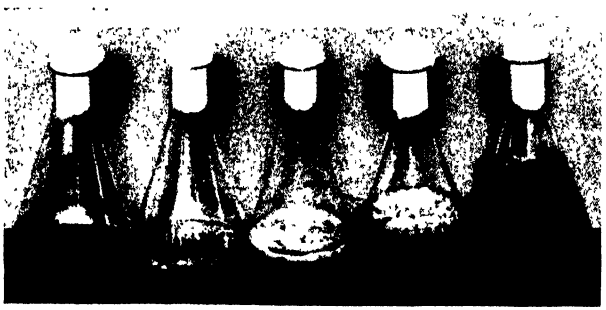


Abb. 1. Gasbildung und Deckenentwicklung in Abhängigkeit von der Schichthöhe. Schichthöhen: 0,5—6,5 cm. Mit je 2 g frischer Erde beimpft. Zusatz von 8 g azotobacterfreier Erde. 3 Tage alte Kulturen.

Gas- und Deckenbildung (von links nach rechts):

	1	2	3	4	5
Gas	⊖	0—00	0000	00000	00000
Decke	+ — + +	+ + + +	+ + — + + +	+	⊖

Tabelle 1. Azotobacterwachstum, Deckenbildung und Gasproduktion in Rohkulturen in Abhängigkeit von der Schichthöhe.

	Erd-zusatz	Schichthöhe cm	3 Tage	5 Tage	8 Tage	12 Tage
mit 2 g Erde beimpft	10 g Reihe I	0,6	⊖ + — br	⊖ br	Rg	Rg
		1	0—00 br	0 br	Rg	Rg
		2	0000	0000 br	br	Rg
		3,5	00000	00000 br	Rg (br)[1]	Rg (br)
		6,5	00000 ⊖	00000 br	Rg	Rg
	⊖ Reihe II	0,6	⊖ br	⊖ br	Rg	Rg
		1	⊖	⊖—0	0 br	Rg
		2	⊖—0	0	0—00	Rg br
		3.5	⊖—0 ⊖	0—00	000	Rg br
		6,5	00—000 ⊖	00000 br	00000 (br)[1]	Rg (br)
mit 0,01 g Erde beimpft	10 g Reihe III	0,6	⊖—0 br	br	Rg	Rg
		1	⊖—0	⊖—0 br	⊖ br	Rg
		2	0	000	000	Rg br
		3,5	0 ⊖	0000	0000 br	Rg
		6,5	00—000 ⊖	00000 br	Rg (br)[1]	(br)
	⊖ Reihe IV	0,6	⊖	⊖	⊖	⊖ Rg
		1	⊖	⊖	⊖ br	⊖ br
		2	⊖ ⊖	⊖	⊖	⊖ br
		3,5	⊖ ⊖	⊖	⊖—0	0 br
		6,5	⊖ ⊖	0	00	0 br

[1]) Deckenbildung nach Zerstörung der Gasblasen.

Zeichenerklärung im Text.

Abb. 1 gibt für diese Reihe (I) die Unterschiede in der Gasproduktion und in der Deckenbildung zu diesem Zeitpunkt recht gut wieder. Die Parallelkulturen zeigten ein fast völlig gleiches Aussehen.

Bei einer Schichthöhe von 6,5 cm war eine äußerst intensive Gasbildung eingetreten; von Azotobacter ist an der Oberfläche noch nichts zu sehen. Bei 3,5 cm Schichthöhe ist die Gasbildung kaum weniger intensiv, aber die großen Gasblasen an der Oberfläche der Flüssigkeit sind mit einem Azotobacterhäutchen überzogen. Bei 2 cm Schichthöhe war die Azotobacterdecke zwar schon recht kräftig ausgebildet, aber durch die bedeutende Gasbildung stark blasig aufgetrieben; besonders am Rand war Azotobacter in Form eines schleimigen Ringes sehr stark entwickelt. Bei der Schichthöhe von 10—11 mm aber hatte sich eine typische, starke und runzelige Azotobacterhaut ausgebildet, in der nur wenige kleine Gasblasen eingeschlossen waren. War die Schichthöhe der Nährlösung nur etwa 5 bis 6 mm, so war überhaupt keine Gasproduktion festzustellen, eine bereits braune Decke, die aber wesentlich schwächer war als die bei 1 cm Schichthöhe, lag der Erde im Kolben direkt auf; die geringe Menge Nährlösung überdeckte gerade die reichlich zugegebene Erde.

Wo die Nährlösung ohne Erdzusatz mit 2 g frischer Erde beimpft worden war (Reihe II), waren die Unterschiede zwischen den verschiedenen Schichthöhen sowohl in der Gasbildung als auch im Azotobacterwachstum weniger ausgeprägt als in Reihe I. Bei 0,5 und 1 cm Schichthöhe fehlte fast jede Gasbildung (richtiger Gasansammlung), bei genauer Beobachtung waren einige winzige Bläschen zu entdecken. Auch bei der extremen Schichthöhe von 6,5 cm war die Gasproduktion nicht sehr bedeutend. Azotobacter war nur — wie in Reihe I — bei 0,5—3,5 cm Schichthöhe nachzuweisen, nicht aber bei 6,5 cm. Die Ausbildung des Häutchens aber war auch bei 0,5 und 1 cm nur sehr schwach. Deutlich zeigt sich beim Vergleich mit der Reihe I der stark fördernde Zusatz der größeren Erdmenge von 10 g.

Dennoch kommt die Erdwirkung erst richtig zum Ausdruck beim Vergleich der nur mit 0,01 g Erde beimpften Reihen III (mit Erdzusatz) und IV (ohne Erdzusatz), da auch Reihe II durch die Beimpfung mit 2 g Erde eine relativ beträchtliche Menge miterhielt, die allerdings bei weitem nicht genügte, den Effekt von 10 g Erde hervorzurufen. Ohne Erdzusatz war (Beimpfung mit 0,01 g) bei der ersten Prüfung nach 3 Tagen noch nirgends Gasbildung eingetreten, auch nicht bei 6,5 cm Schichthöhe. Desgleichen fehlte auch jede Deckenbildung. Azotobacter war nur bei 0,5 und 1 cm Schichthöhe am flockigen Wachstum in der Lösung zu erkennen (Reihe IV). Demgegenüber ist bei Erdzusatz (Reihe III) Azotobacter noch bei einer Schichthöhe von 3,5 cm durch die Deckenbildung zu identifizieren.

Gesamtübersicht: Bei Berücksichtigung des Aussehens der Kulturen auch nach 5, 8 und 12 Tagen ergibt sich, daß bei Verwendung eines größeren Erdzusatzes (1mal sterilisiert) die Gasbildung erst ab 2 cm Schichthöhe bedeutend wurde. Bei geringerer Schichtdicke war die Gasbildung nur minimal. Wurde nur mit 0,01 g beimpft (Lösung ohne Erdzusatz), so war die Gasbildung auch bei 3,5 cm nur ganz unbedeutend.

Nur bei Verwendung einer geringen Flüssigkeitsmenge (0,5 cm Höhe) bei Erdzusatz und reichlicher Beimpfung (2 g) war das Optimum der (verhältnismäßig geringen) Deckenbildung schon nach 3 Tagen erreicht. In den Reihen II und III (2 g Impferde ohne Erdzusatz bzw. 0,01 g mit Erd-

zusatz) war bei 0,5 cm Schichthöhe die Decke erst nach 5 Tagen voll entwickelt; in Reihe IV war bei dieser Schichthöhe die optimale Entwicklung erst nach 8 Tagen eingetreten.

Mit Verwendung größerer Schichthöhen (zugleich auch größerer Flüssigkeitsmengen) steigt die Zeitdauer bis zum Eintritt optimaler Entwicklung der Decke: In Reihe I und III ist der Höhepunkt nach 5 Tagen erreicht, in Reihe II erst nach 8 Tagen, während bei geringerer Beimpfung und ohne Erdzusatz (Reihe IV) die Entwicklung noch bedeutend langsamer vor sich geht und erst nach 12 Tagen den Höhepunkt erreicht, als in den anderen Reihen bereits ein Zerfall der Decken eingetreten war.

Auch bei 6,5 cm Schichthöhe und zugleich relativ geringer Oberfläche kommt es in 3 von 4 Reihen zu einem bedeutenden Wachstum von Azotobacter an der Oberfläche der Flüssigkeit, die eine eindeutige Erkennung ohne besondere mikroskopische Untersuchung ermöglicht. In Reihe I, wo bei Erdzugabe mit 2 g beimpft wurde, kommt es allerdings nur bei einer Schichthöhe von 1 cm zur Ausbildung einer starken typischen Decke, bei 0,5 cm bleibt diese viel schwächer. Bei 2 cm Schichthöhe ist sie wohl sehr stark, aber blasig aufgetrieben. Bei 3.5 und 6.5 cm ist die Oberfläche, wie Abb. 1 zeigt, derart durch große Gasblasen blockiert, daß für die Ausbildung einer normalen Decke kein Platz ist. Die Oberfläche der Gasblasen ist aber stets mit einer dünneren oder dickeren Lamelle überzogen, die an der früh eintretenden Braunfärbung das Vorhandensein von Azotobacter erkennen läßt. Wie auch sonst oft beobachtet werden konnte, tritt eine Braunfärbung, die ein Zeichen des Nährstoffverbrauchs im Kulturmedium ist, auch bei Verwendung sehr großer Flüssigkeitsmengen in einer den Gasblasen aufgelagerten Azotobacterhaut ein, da die Zellen hier von jeder Flüssigkeitszufuhr abgesperrt liegen.

Wurden aber, wie bei 3,5 und 6,5 cm Schichthöhe, in den Versuchsreihen I und III am 5. oder 8. Tag, nachdem die Gasproduktion bereits zum Stillstand gekommen war, die oberflächlich liegenden braunwandigen Blasen mit einer Impfnadel zerstört, so bildete sich innerhalb weniger Tage eine neue typische, stark runzelige Decke, die lange Zeit ihre weißlich-graue Farbe behielt, da sie direkt der reichlich zur Verfügung stehenden Nährlösung auflag.

Besonders auffallend ist die ausgezeichnete Deckenbildung, die in Reihe IV bei Beimpfung mit nur 0,01 g Erde (ohne Erdzusatz) eintrat, während sonst immer die Verwendung reichlicher Impfmengen zur Erzielung guter Decken als notwendig hingestellt wird. Gerade die sonst nie verwendeten bedeutenden Schichthöhen von 3,5 und 6,5 cm wiesen die bestausgebildeten Decken auf. In geringeren Schichtdicken waren dagegen in dieser Reihe (IV) nur bedeutend weniger starke Decken gebildet. Bei Beimpfung mit geringen Erdmengen ohne Verwendung eines Erdzusatzes wären also höhere Flüssigkeitsschichten für die Deckenbildung von Azotobacter viel geeigneter als dünne Schichten. Bei Beimpfung mit größeren Erdmengen oder bei Zugabe sterilisierter Erde gilt das Gegenteil.

Diese Versuchsreihe kann jedoch nicht als eindeutiger Beweis für die Überlegenheit höherer Flüssigkeitsschichten gelten: Beim wiederholten Herausnehmen der Kolben aus dem Thermostaten sind kleine Erschütterungen nicht ganz zu vermeiden, was zum Zerreißen schon gebildeter dünner Decken führen kann. Durch diese mechanischen Störungen kommt es sehr leicht zu einer Hemmung des weiteren Deckenwachstums. In den stärker

gefüllten Kolben aber sind die Oberflächen durch die bedeutendere Stabilität der größeren Flüssigkeitsmengen Erschütterungen und Bewegungen viel weniger ausgesetzt als in den Kolben mit geringerer Flüssigkeitshöhe. Die schlechtere Deckenbildung in den weniger hochgefüllten Kolben hätte möglicherweise derart eine einfache Erklärung finden können.

Die nächste Versuchsreihe, bei der die Kolben bis nach eingetretener Deckenbildung vollständig ruhig standen und dann ganz besonders vorsichtig behandelt wurden, bestätigte jedoch mit voller Eindeutigkeit die Überlegenheit hoher Flüssigkeitsschichten für die Deckenbildung bei Beimpfung mit geringen Erdmengen. Die Erschütterungen, die die Kulturgefäße in der letzten Versuchsreihe erlitten hatten, waren also ohne wesentlichen Einfluß auf die Deckenbildung geblieben.

Bei Verwendung von 2 verschiedenen Erdproben gelangten die Schichthöhen von 0,5—0,6, 1,0—1,1, 2,4 und 6 cm zur Untersuchung, wobei jeder Kolben mit 0,01 g Erde beimpft wurde. Je 3 Parallelversuche. Kein Erdzusatz.

Tabelle 2. Deckenbildung und Gasproduktion in Azotobacterrohkulturen in Abhängigkeit von der Schichthöhe. Nährlösung ohne Erdzusatz. Mit 0,01 g Erde beimpft.

Schichthöhe	Erdprobe A	Erdprobe B
0,6 cm		
1 cm		
2 „		
4 „		
6 „	00—000	0

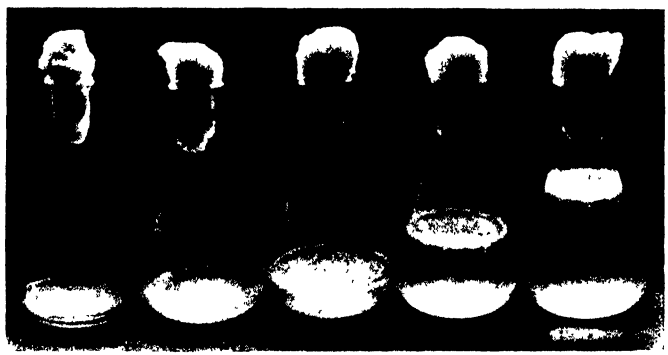


Abb. 2. Gasbildung und Deckenentwicklung in Abhängigkeit von der Schichthöhe. Schichthöhen: 0,5—6,5 cm. Mit je 0,01 g Erde beimpft. Ohne Erdzusatz. 11 Tage alte Kulturen. (Zu Tabelle 2.)

Gas- und Deckenbildung (von links nach rechts):

	1	2	3	4	5
Gas	⊖	⊖	⊖	⊖	0
Decke	+	+	+++	+++—+++	++++—+++++

Mit Impfmaterial von Bodenprobe A geht die Entwicklung merklich schneller vor sich als mit Erde B, was sich besonders in den Versuchen mit geringen Schichthöhen (0,5 und 1 cm) in der früher auftretenden Braunfärbung und in einer allgemein stärkeren Deckenbildung zeigt. In Reihe B

ist schon nach 5—7 Tagen eine eindeutige Überlegenheit der bedeutenderen Schichthöhen zu erkennen, während mit Boden A die Unterschiede zu dieser Zeit noch gering sind. Nach weiteren 4—6 Tagen (11. Tag) sind die Unterschiede auch in der Reihe A bereits sehr deutlich ausgeprägt. In den folgenden Tagen (11.—14. Tag) trat nirgends mehr eine wesentliche Änderung ein. Das Optimum der Deckenbildung war wie in Versuchsreihe I (Tab. 1) nach etwa 11 Tagen erreicht, bei 0,5 cm Schichthöhe schon nach 7 Tagen. Gasbildung bzw. Gasblasenansammlung hatte in deutlich erkennbarem Ausmaß nur bei 6 cm Schichthöhe eingesetzt.

Störend für die Deckenbildung wirkte die Gasblasenentwicklung nur in einem Kolben der Reihe A (6 cm Schichthöhe), wo daher die Deckenentwicklung im Durchschnitt schlechter war als bei nur 4 cm Schichthöhe. Mit Erdprobe B dagegen kam, wie in der ersten Versuchsreihe, bei der größten Schichthöhe die Azotobacterdecke zur besten Entwicklung. Anschaulicher als jede Beschreibung zeigt Abb. 2 die Überlegenheit der Deckenbildung bei Verwendung bedeutenderer Schichthöhen. Zu dieser Abbildung ist nur zu bemerken, daß im Kolben mit 2 cm Schichthöhe in der Wiedergabe die Decke etwas stärker scheint, als sie tatsächlich ist. Bei 4 cm Schichthöhe ist die Decke etwas schwächer entwickelt als dem Durchschnitt der drei Parallelkulturen entspricht.

Die beiden Versuchsserien über den Einfluß verschiedener Schichthöhen zeigen also folgende Hauptergebnisse: Die Entwicklung gasbildender und (wohl allgemein) anaerober Bakterien ist bei Verwendung geringer Schichtdicken gehemmt, in höheren Schichten, etwa ab 1,5—2 cm gefördert. Die Azotobacterentwicklung kommt bei Verwendung der minimalen Schichtdicke von 0,5 cm am frühesten zum Abschluß, ist aber, obwohl die Gasbildung, wenn überhaupt vorhanden, nur minimal ist, nicht befriedigend. Beste und zugleich sehr schnelle Deckenbildung tritt bei Verwendung einer etwa 1 cm hohen Schicht ein, vor allem, wenn eine größere Erdmenge zur Förderung und zur Beschleunigung des Wachstums zugegeben wird. Auch bei der bedeutenden Schichthöhe von 6—6,5 cm tritt stets eine intensive Vermehrung von Azotobacter ein, die, falls die Oberfläche nicht zu sehr durch Gasblasen blockiert ist, zur Deckenbildung führt. Bei Verwendung geringer Impfmengen ohne jeden Erdzusatz sind die bedeutenderen Schichthöhen den geringeren in der Deckenbildung überlegen, wenn auch ein sichtbares Wachstum von Azotobacter in der Lösung in niedriger Schicht früher eintritt als in hoher.

Diesen Tatsachen gegenüber wird es wohl kaum möglich sein, die Elektivkultur in Nährlösungen, lediglich des aeroben Charakters von Azotobacter wegen, zu dessen quantitativer Bestimmung von vornherein zu verwerfen. Die Methode besitzt mehr als einen „historischen Wert".

Die stets so stark betonte Aerobie von Azotobacter macht sich also in diesen Versuchen nur verhältnismäßig wenig bemerkbar. Da auch bei Beimpfung mit der sehr geringen Menge von nur 0,01 g Erde der Nachweis von Azotobacter ganz ausgezeichnet möglich ist, ergibt sich daraus mit aller Sicherheit: Die Verwendung von Nährlösung in nur 1 cm hoher Schicht ist zum Nachweis von Azotobacter durchaus berechtigt, da noch bei 6,5 cm Schichthöhe und relativ viel geringerer Oberfläche die Sauerstoffverhältnisse solche waren, daß Azotobacter ausgezeichnet wuchs.

Es ist nicht leicht, eine Erklärung zu geben für die bei Beimpfung mit sehr geringen Erdmengen festgestellte Überlegenheit in der Deckenbildung in hoher Flüssigkeitsschicht. Unter besonderer Berücksichtigung der Tatsache des zuerst schnelleren Wachstums in geringen Schichthöhen scheint die Vermutung nicht unberechtigt, daß durch die Verhältnisse in der hohen Schicht Azotobacter an die Oberfläche gedrängt wird. Vermutlich ist die stärkere Entwicklung der mit Azotobacter im Boden vorkommenden Begleitarten dafür verantwortlich zu machen. Ob überall ein passiver Transport an die Oberfläche durch aufsteigende Gasblasen stattgefunden hat, läßt sich nicht beweisen.

Trotz der Überlegenheit der Deckenbildung in hoher Schicht bei Prüfung geringer Erdmengen wird man dennoch die geringe Schichthöhe von etwa 1 cm verwenden, da damit eine Reihe von Vorteilen verbunden sind:

1. Das Arbeiten mit geringen Flüssigkeitsmengen ist bei serienmäßigen Versuchen bedeutend sparsamer.

2. Die Entwicklung von anaeroben und gasbildenden Bakterien hält sich in bescheideneren Grenzen, so daß die Möglichkeit einer zufälligen Störung durch überreiche Anaerobenentwicklung und zu starke Gasblasenansammlung mindestens bedeutend geringer, wahrscheinlich aber ganz ausgeschaltet ist.

3. Die Entwicklung geht in geringer Schicht viel schneller vor sich als in hoher, so daß auch bei fehlender oder nur schwacher Deckenbildung der mikroskopische Nachweis von Azotobacter schon früher möglich ist, als bei Verwendung von Nährlösungen in hoher Schicht.

Aus dem Vergleich der Ergebnisse der ersten Versuchsreihe (Tab. 1) läßt sich noch eine andere interessante Erkenntnis ableiten: In den Reihen I und III und auch in Reihe II sind es in erster Linie die durch die reichliche Beimpfung bzw. durch den reichlichen Erdzusatz in die Nährlösung gelangten Humusstoffe und anderen stimulierenden Substanzen des Bodens, die die Deckenbildung bedingen. Nun zeigt sich bereits zwischen Reihe I, die insgesamt 12 g Erde enthält, und Reihe II, die 2 g enthält, ein deutlicher Unterschied. Nur verschwindend gering kann daher die stimulierende Wirkung der mit 0,01 g Erde in die Nährlösung gelangten Stoffe sein. Trotzdem kommt es auch hier zu einer Deckenbildung, die der in anderen Reihen nicht nachsteht. Es ist daher höchstwahrscheinlich, daß den Begleitbakterien die günstige Wirkung auf die Deckenbildung zuzuschreiben ist. Was Schröder, Stapp und Ruschmann in „synthetischen" Versuchen mit Reinkulturen von Azotobacter und seiner Begleitbakterien nachweisen konnten, daß die Begleitbakterien die Deckenbildung zumindest mitbedingen können, hat also durch meine Versuche mit Rohkulturen eine Bestätigung erfahren. Noch ein zweiter Vergleich bekräftigt diesen Schluß. In der Versuchsreihe IV (Tab. 1) (ohne Erdzusatz, Beimpfung mit 0,01 g) sind die Erdmengen in allen Kolben ganz gleich, wie verschieden auch die Schichthöhen sein mögen. Trotzdem ist die Deckenbildung ganz ungleich. Die Verschiedenheit kann nur in der biologischen Komponente begründet sein: Die Entwicklung dieser Begleitbakterien ist selbstverständlich je nach der Schichthöhe ganz verschieden, verschieden ist dementsprechend auch die Wirkung auf die Deckenbildung von Azotobacter. Der Einwand, daß die Verschiedenheit der Nährlösungsmengen an sich ausschlaggebend sein könnte, scheint ganz unwahrscheinlich, da damit vielleicht wohl die

Unterschiede der Deckenbildung bei 0,5 und 6,5 cm erklärt werden könnte, nicht aber die Verschiedenheit zwischen 2,4 und 6 cm, wo überall Nährstoffe im Überschuß zur Verfügung stehen, wie aus der sehr spät einsetzenden Braunfärbung zu erkennen ist.

Nachdem in den beiden ersten Versuchsreihen bei geringer Schichthöhe (0,5 und 1 cm) eine verhältnismäßig schnelle Erschöpfung des Mediums eingetreten war (kenntlich an der früh eintretenden Braunfärbung) lag es nahe, die Brauchbarkeit von Nährlösungen mit höherem Mannitgehalt zu untersuchen.

Nährlösungen mit 2, 4 und 6% Mannit wurden z. T. mit 2 g, z. T. mit nur 0,01 g Erde beimpft. Die eine Hälfte erhielt einen Erdzusatz von 8 g. (Einmalige Sterilisation.) Die Schichthöhen waren 5, 8 und 11 mm (12, 20 und 35 ccm). 6% Mannit wurde nur in den beiden ersten Schichthöhen untersucht. Mit der Untersuchung der Wirkung verschiedener Mannitmengen wurde eine feinere Erfassung der optimalen Schichthöhe versucht.

Die Nährlösung mit 6% Mannit gab ganz unbefriedigende Resultate. Auch bei den so geringen Schichthöhen von 5 und 8 mm war die Gasentwicklung sehr stark und die Deckenbildung verhältnismäßig schlecht. Daher sollen nur die Ergebnisse mit 2 und 4% Mannit eine etwas genauere Darstellung erfahren.

Nach 2 Tagen war Azotobacter nur in den mit 2 g Erde beimpften Kolben, die zugleich einen Erdzusatz erhalten hatten, angewachsen. Die Lösungen mit 2 und 4% Mannit zeigten, wie auch noch am nächsten Tag, überhaupt keinen Unterschied. Die Deckenbildung war bei der geringsten Schichthöhe am weitesten vorgeschritten, bei 11 mm Schichthöhe dagegen am schwächsten. Bei 5 mm Schichthöhe hatte die der Erde aufliegende Decke bereits das Endstadium der Entwicklung erreicht.

Nach 3 Tagen war Azotobacter bereits überall zu erkennen. Bei Beimpfung mit 0,01 g Erde ohne weiteren Erdzusatz trat allerdings nur eine durch Azotobacter bedingte Trübung der Lösung ein, sonst bereits überall Deckenbildung. Die Versuche brachten eine Bestätigung der schon in der ersten Reihe erkannten beschleunigenden Wirkung größerer Erdmengen auf das Wachstum und die Deckenbildung von Azotobacter. Wieder war ein bedeutender Unterschied vorhanden, je nachdem sich nur 2 oder 10 g Erde in der Lösung befanden.

Die Verwendung einer 4proz. Lösung bringt gegenüber der üblichen 2proz. keine wesentlichen Vorteile. Wohl ist die Deckenbildung vielfach etwas stärker; unangenehm ist jedoch die intensivere Gasbildung, die bei 6% Mannit noch viel ausgeprägter ist. Durch die bei 4% Mannit in größerer Menge zur Verfügung stehende Kohlenstoffquelle tritt die Braunfärbung erst später ein.

Sofern nicht eine durch starke Gasbildung bedingte Störung der Deckenbildung einsetzt, ist die Schichthöhe von 11 mm vorteilhafter als die von 8 oder gar nur 5 mm. Auch bei 8 mm sind die Decken sehr gut ausgebildet, da eine störende Gasbildung nie einsetzte. Die Schichthöhe von 5 mm steht stark zurück.

Eine Schichthöhe von 0,9—1 cm (25—30 ccm in 250-ccm-Erlenmeyerkolben) dürfte bei Berücksichtigung der in manchen Proben stärker hervortretenden Anaeroben die besten Ergebnisse versprechen.

2. Untersuchungen über die Wirkung der Beigabe von Erde und von natürlichen Humusstoffen auf die in Nährlösungen nachweisbaren Keimzahlen.

Ungeachtet der zweifellos günstigen Wirkung von Erde und Humus auf das Wachstum und die Deckenbildung von Azotobacter besteht die Frage, ob ein solcher Zusatz für die quantitative Bestimmung der Azotobacterkeime unerläßlich ist oder ob bei Beimpfung einer synthetischen Nährlösung mit hochverdünnten Bodensuspensionen, die nur ganz wenige oder im Extremfall einen einzigen Azotobacterkeim enthalten, dieser auch dann zur Entwicklung gelangt, wenn Erde oder Humus nicht beigegeben wurde.

Wenn auch das Vorhandensein einer Decke die Erkennung von Azotobacter etwas erleichtert, so ist der Nachweis auf mikroskopischem Wege auch dann ohne Schwierigkeit möglich, wenn sich nur eine schleimig-flockige Trübung der Lösung oder ein schleimiger Wandbelag an der oberen Grenze der Flüssigkeit am Glas gebildet hat.

Die Zahl der Begleitbakterien übertrifft nach allen Beobachtungen bei weitem die Zahl der in Erdproben vorhandenen Azotobacterkeime. Bei Beimpfung mit hochverdünnten Bodensuspensionen, in denen Azotobacterkeime nicht mehr vorhanden sind, zeigen diese Bakterien in der stickstofffreien (richtiger: sehr stickstoffarmen) Nährlösung noch (sehr geringes) Wachstum, das in Gegenwart von Azotobacter bedeutend stärker wird. Nach den Ergebnissen eigener Versuche und der von Stapp und Ruschmann und Schröder üben zumindest einzelne dieser Begleitbakterien einen günstigen Einfluß auf das Wachstum von Azotobacter aus. Ein Fehlen von Humusstoffen mag dadurch mindestens z. T. ausgeglichen werden. Das Wesentliche ist, daß alle in die Nährlösung eingebrachten Keime zur Entwicklung gelangen.

Eine für alle Methoden nicht ganz überwindbare Schwierigkeit liegt in der prinzipiell zu fordernden Zerteilung der Kolonien in die einzelnen Keime. In den vorliegenden Versuchen wurde eine möglichste Zerteilung durch zweistündiges Schütteln der Erdsuspensionen 1 : 100 zu erreichen gesucht.

Die im folgenden mitgeteilten Versuche erweisen — im Gegensatz zu der ursprünglich aufgestellten Arbeitshypothese —, daß ein Humus- oder Erdzusatz keinen Einfluß auf die Zahl der nachweisbaren Keime ausübt, daß ohne diese Zusätze die Azotobacterentwicklung in synthetischen Nährlösungen wohl etwas schwächer ist, daß aber eingeimpfte Keime stets — mindestens nicht minder oft als in Lösungen mit Erde oder Humus — zur Entwicklung gelangen.

Eine erste umfangreiche Versuchsreihe galt dem Vergleich der Wirkung verschiedener Mengen verschieden behandelter Erde mit der normalen synthetischen Nährlösung (Tab. 3).

Je 30 ccm Nährlösung erhielten einen Zusatz von 2 bzw. 10 g Erde, die 1mal oder 4mal (in Intervallen von 24 Std.) im Dampftopf sterilisiert worden war. Endlich wurde auch Erde verwendet (2 und 10 g), die 4 Std. lang bei 180° im Trockenschrank gehalten wurde; eine weitere Sterilisation im Dampftopf fand nach dem Einfüllen in die Nährlösung statt. Bei keiner der 3 Behandlungsweisen blieben die unbeimpften Kontrollkolben völlig steril. Weiter wurde ein hochwirksames Humuspräparat (Natriumhumat) aus Lauberde angewendet, in Mengen von 12, 35 und 115 mg Trockengewicht. Auch noch mit der geringsten Quantität Natriumhumat nimmt die Nährlösung eine tiefbraune Farbe an.

Aus der mit verdünnter Salzsäure gereinigten Erde wurden die Humusstoffe mit 10proz. Natronlauge herausgelöst und die Lösung durch Zentrifugieren von allen festen Teilen befreit. Mit Salzsäure wurden die Humussäuren ausgefällt, etwas gewaschen, mit verdünnter Lauge wieder gelöst und mit Hilfe von Lakmuspapier auf eine schwach alkalische Reaktion eingestellt.

Ein zweites, in derselben Weise aus nicht sehr humusreicher Ackererde hergestelltes Humuspräparat war bedeutend weniger wirksam als die Lösung aus Lauberde.

Von 1 g Erde ausgehend wurden nach Zehnerpotenzen abgestufte Verdünnungen bis 1 : 10 000 000 (0,1 γ Erde) geprüft, unter Verwendung von natürlicher, feuchter Erde (auch wenn sich die Gewichtsangaben auf lufttrockene Erde beziehen). Die Beimpfung erfolgte (mit Ausnahme der Menge von 1 g Erde) mit je 3 ccm Bodensuspension. Die Versuchsreihe wurde in 2 Parallelen ausgeführt (die Vergleichskulturen ohne jeden Zusatz 3fach). Die Prüfung fand nach 3, 5, 7 und 10 Tagen statt.

Tabelle 3. Keimzahlbestimmungen in Nährlösung (je 30 ccm). Ohne Zusatz und mit verschiedenen Mengen Erde und Humus.

Wiedergabe der Deckenbildung: 1 = |, 5 = |++++.
Zahlen in Klammer: Nur eine der beiden Parallelproben ist positiv.

	10 g Erde			2 g Erde			Humus A			Humus B		Ohne Zusatz
	1mal steril.	4mal steril.	180°	1mal steril.	4mal steril.	180°	12 mg	35 mg	115 mg	12 mg	35 mg	
1 : 1 1 g	5,—	5,—	4,5	5,—	5,—	4, —	3,5	4,5	5,—	3,5	4,5	3,5
1 : 10 100 mg	5,—	5,—	3,5	3,5	4,5	4,—	3,5	4,5	5,—	3,5	4,5	2
1 : 100 10 mg	4,5	4,5	3,5	3,5	4,—	4,—	3,—	4,—	4,5	2,5	4,5	0,5
1 : 1000 1 mg	(2,5)	4,—	(1,5)	3,5	3,5	2,—	3,—	4,—	4,—	0,5	1,5	Trübung
1 : 10 000 0,1 mg	⊖	(1,5)	⊖	⊖	⊖	(1,5)	(0,5)	⊖	⊖	(Trübung)	(1)	(Trübung)
1 : 100 000 0,01 mg	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

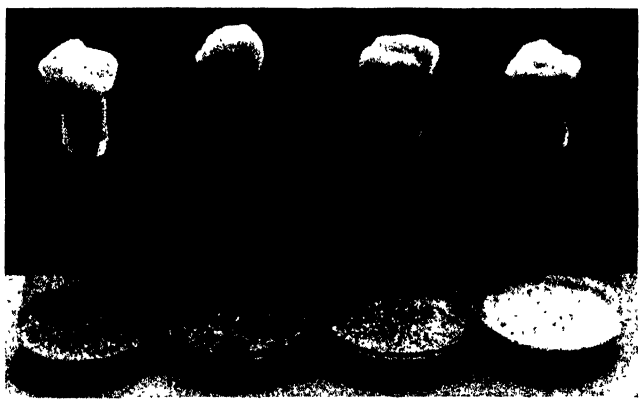


Abb. 3. Deckenbildung in Abhängigkeit von der Impfmenge. Beimpft mit (von links nach rechts): 1 g, 100 mg, 10 mg, 1 mg. Nach 5 Tagen. Zusatz von 10 g Erde (4mal sterilisiert). Deckenbildung (von links nach rechts): +++++, +++++, +++++, +++++—+++++.

Die Reihen mit 10 g Erde sind in der Entwicklung von Azotobacter allen anderen voraus: Schon nach 2 Tagen ist in den mit 1 g und 0,1 g Erde beimpften Kolben Deckenbildung eingetreten.

Eine bemerkenswerte Erscheinung gibt Abb. 3 wieder. Die vier abgebildeten Kolben, die alle einen Zusatz von 10 g Erde erhalten haben, sind

mit 1, 0,1, 0,01 und 0,001 g Erde beimpft; in der Deckenbildung aber ist nach 5 Tagen kaum ein Unterschied zu erkennen; während die Decken mit 1 und 0,1 g Erde schon tiefbraun sind, ist die (etwas schwächere) Decke mit nur 1 mg Erde noch grau.

Abb. 4 zeigt das Aussehen der entsprechenden Verdünnungsreihe ohne Erdzusatz zur selben Zeit. Gute Deckenbildung ist nur mit 1 g Erde eingetreten, mit 1 mg ist noch keine Decke gebildet worden, sondern nur flockiges Wachstum in der Lösung eingetreten. Hingewiesen sei auf den bedeutenden Unterschied in der Stärke der Deckenbildung bei Beimpfung mit 1 g, mit und ohne Erdzusatz (insgesamt 11 g, bzw. nur 1 g Erde).

Abb. 3 ist ein ganz ausgezeichnetes Beispiel dafür, wie bei den „Aktivitätsbestimmungen" die größten Unterschiede (1 : 1000) schon nach ganz kurzer Versuchszeit fast völlig verwischt werden können. Es kommt in erster Linie eben nicht auf die vorhandene Keimzahl, sondern auf die gebotenen Wachstumsbedingungen an. (Es ist allerdings zu bemerken, daß in Abb. 3 die bestentwickelten Kulturen wiedergegeben sind.)

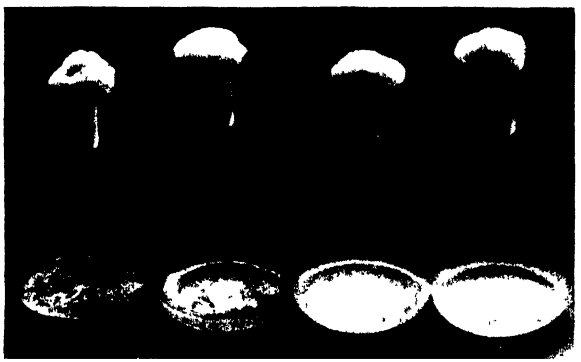


Abb. 4. Deckenbildung und Wachstum von Azotobacter in Abhängigkeit von der Impfmenge. Beimpft mit (von links nach rechts): 1 g Erde, 100 mg, 10 mg, 1 mg. Nach 5 Tagen. Ohne Erdzusatz. Deckenbildung (von links nach rechts): +++, +—+, ⊖—+, ⊖ (nur flockiges Wachstum).

In den Reihen 1 : 10 000 000, 1 : 1 000 000 und 1 : 100 000 war nirgends Azotobacter nachzuweisen. Die Reihen 1 : 1 bis 1 : 100 hatten durchweg Azotobacterdecken entwickelt. In der Verdünnung 1 : 1000 war wohl in allen Reihen Azotobacter nachzuweisen; in den Versuchen mit 10 g Erdzusatz, mit der 1mal sterilisierten und der auf 180° erhitzten Erde, war nur in je einer der beiden Parallelkulturen Azotobacter angewachsen. Es scheint dies kein Zufall zu sein. Vermutlich sind die beiden Kolben nicht deshalb negativ, weil in den eingebrachten Erdsuspensionen kein Azotobacter vorhanden war, sondern weil Azotobacter durch die überwuchernden Begleitbakterien vollständig unterdrückt wurde. Dafür spricht die starke Gasbildung in den negativen Kolben. Es ist aber wahrscheinlich nicht die Gasbildung an sich, die die Azotobacterentwicklung hemmt, sondern die starke Säurebildung eines Teiles dieser Bakterien, so daß die Nährlösung trotz des zugegebenen Kalziumkarbonats eine saure Reaktion annimmt, die ein Wachstum von Azotobacter unmöglich macht (die Prüfung wurde in einfacher Weise mit Lackmuspapier durchgeführt). In den Versuchen mit 10 g nur einmal sterilisierter Erde ist das Überwiegen dieser Bakterien leicht verständlich, die in den positiven Kolben ebenso vorhanden sind, dort aber durch das üppige Wachstum des in größerer Zahl eingeimpften Azotobacter nicht zur Wirkung kommen. Auffallend ist die allgemein verhältnismäßig starke Gasbildung und die auf-

fallend schlechte Azotobacterentwicklung in den Reihen mit der auf 180° erhitzten Erde. Der sonst feststellbare günstige Erdeinfluß scheint bei dieser Behandlung zum größten Teil verlorenzugehen.

In der Verdünnungsreihe 1 : 10 000 (0,1 mg Erde) tritt vereinzelt (in 6 von 25 Kolben) eine verhältnismäßig geringe Azotobacterentwicklung ein, und zwar regelmäßig nur in einem von den 2 bzw. 3 Parallelkolben. Nach den Ergebnissen weiterer Versuche sind aus dieser (regellosen) Verteilung der positiven Proben in dieser Verdünnungsreihe keine Schlüsse auf eine bessere Brauchbarkeit bestimmter Versuchsreihen zu ziehen.

Wie zu erwarten, zeigt die Reihe ohne jeden Zusatz bei allen Impfmengen die schwächste Azotobacterentwicklung, was aber die Keimzahlbestimmung selbst nicht beeinträchtigt. 10 g Erde sind wirksamer als nur 2 g. Das Ackererde-Humuspräparat ist weniger wirksam als das Lauberdepräparat. Der große Vorteil der Humuspräparate gegenüber nicht absolut keimfreier Erden liegt in der gleichmäßigen, ungestörten Entwicklung der Azotobacterdecken. Während bei der Prüfung wenig verdünnter Bodensuspensionen Humus nicht so wirksam als Erde zu sein scheint, zeigt sich bei Prüfung der höchsten Verdünnungen eine deutliche Überlegenheit (Tab. 3).

Eine weitere Versuchsreihe, in der nochmals Lauberdehumuslösung, 1mal im Dampftopf sterilisierte Erde und 8 Std. auf 180° erhitzte Erde verglichen wurden, unter Verwendung zweier Erdproben zur Herstellung der zu prüfenden Suspensionen (je 3 Parallelkulturen) brachte eine Bestätigung der Ergebnisse der vorigen Versuchsreihe. Die nachweisbare Keimzahl ist von der Methode unabhängig. Humuslösung war wieder der nicht vollständig sterilen Erde überlegen.

In all den Versuchen wurden die Verdünnungen so hergestellt, daß das Endvolum jeder Erdsuspension 1 l betrug; davon wurden dann je 3 ccm für die Beimpfung jedes Kolbens verwendet.

Mit nur 2 oder 3 Parallelversuchen sind die Resultate selbstverständlich sehr stark Zufälligkeiten ausgesetzt. Weitere Versuche wurden daher mit je 10 Parallelversuchen unternommen.

Tabelle 4. Keimzahlbestimmungen in Nährlösung (je 30 ccm): a) ohne Zusatz, b) mit Erdzusatz. Zahl der positiven Kolben (von insgesamt je 10) und daraus errechnete Keimzahlen.

	Ohne Zusatz	8 g Erde 2mal sterilisiert
1 : 1000	10	10
1 mg		
1 : 5000	9	7
0,2 mg	4500	3500
1 : 20 000	7	4
0,05 mg	14 000	8000
1 : 60 000	2	2
0,017 mg	12 000	12 000

Ein Vergleich der in Tab. 4 wiedergegebenen Resultate zeigt die Gleichwertigkeit der beiden Methoden (Nährlösungen mit und ohne Erde). Die Keimzahlen betragen etwa 10 000 pro Gramm.

In dieser und den folgenden Tabellen ist die Zahl der jeweils (meist von insgesamt 10) positiven Proben angegeben. Um nun die Verdünnungsgrade miteinander besser vergleichen zu können, wurden die entsprechenden Keimzahlen einfach in der

Weise errechnet, daß der Verdünnungsgrad (z. B. 5000) durch die Gesamtzahl der beimpften Proben (z. B. 10) dividiert und mit der Zahl der davon positiven Proben (z. B. 7) multipliziert wurde (ergibt 3500 Keime pro Gramm Erde). Es sei betont, daß ich mir bewußt bin, daß man unter Anwendung der Wahrscheinlichkeitsrechnung zu etwas anderen Zahlen gelangen würde. Die mitgeteilten Zahlen wollen nichts als einen annähernden Vergleich ermöglichen. Aus höheren Verdünnungsgraden sind im allgemeinen richtigere Keimzahlen zu ermitteln als aus den niedrigeren.

Mit einer anderen Erdprobe wurden die in Tab. 5 wiedergegebenen Werte erhalten. 8 g Erde (2mal sterilisiert) wurde mit Lauberdehumus und der Lösung ohne allen Zusatz verglichen. Die Zahl der Azotobacterkeime beläuft sich auf etwa 2500 pro Gramm. Daß in der Reihe mit Humuszusatz bei Beimpfung mit der Suspension 1 : 60 000 noch in einem Kolben Azotobacter anwuchs, ist als Zufall zu werten.

Tabelle 5. Keimzahlbestimmungen: a) in Nährlösung ohne Zusatz, b) in Nährlösung mit Humus, c) in Nährlösung mit Erde. Zahl der positiven Proben (von insgesamt 8) und daraus errechnete Keimzahlen pro Gramm Erde.

	Ohne Zusatz		105 mg Humus A		8 g Erde 2mal sterilisiert	
1 : 1000	8		7		5	
1 mg				875		625
1 : 5000	4		4		2	
0,2 mg		2500		2500		1250
1 : 20 000	1		1		1	
0,05 mg		2500		2500		2500
1 : 60 000	⊖		1		⊖	
0,017 mg				(7500)		

Hier, wie in der vorigen Versuchsreihe, ist das Zurückbleiben der Kolben mit Erdzusatz bei Prüfung der weniger stark verdünnten Bodensuspensionen auffallend. Bei der letzten Versuchsreihe (Tab. 5) ist besonders bemerkenswert, daß die negativen Kolben eine sehr starke Gasentwicklung zeigen; besonders bei 1 : 1000, wo nur 5 von 8 Kolben positiv sind, während von den Kolben ohne Zusatz alle 8 Azotobacter haben. Hier spielt zweifellos die Hemmung durch überwuchernde Begleitbakterien eine entscheidende Rolle. Recht gut bewährt hatte sich wieder ein Humuszusatz, ohne aber die Reihe ohne Zusatz im Verhältnis der positiven zu den negativen Proben übertreffen zu können.

Bei all diesen Versuchen war stets in der Weise vorgegangen worden, daß nach dem Eintragen der Bodensuspension die Kolben mit der Nährlösung und der eventuell zugegebenen Erde etwas durchschüttelt wurden, um die Keime in der Nährlösung möglichst gleichmäßig zu verteilen. Wo nun die Kolben die beträchtliche Erdmenge von 8 oder 10 g enthielten, schien es nicht ausgeschlossen, daß beim Sedimentieren der Erde in den geschüttelten Kolben die eingeführten Keime durch die Erdteilchen mitgerissen würden und von einer dickeren Erdschicht bedeckt, vielleicht doch nicht zur Entwicklung kommen könnten.

In einer neuen Versuchsreihe (Tab. 6) wurde daher zum Vergleich die Bodensuspension ganz vorsichtig eingefüllt, so daß die Keime in der Nährlösung suspendiert blieben oder sich nur auf die Oberfläche der zugegebenen Erde absetzen konnten. Zum Vergleich wurden auch 20 ccm Nährlösung verwendet (bei allen anderen Versuchen waren es stets 30 ccm).

Tabelle 6. Versuch über den etwaigen Einfluß des Schüttelns der mit Erdzusatz versehenen Kolben nach der Beimpfung. Zahl der positiven Kolben (von insgesamt 10).

	30 ccm Nährlösung ohne Zusatz	30 ccm Nährlösung mit 8 g Erde, geschüttelt	30 ccm Nährlösung mit 8 g Erde, nicht geschüttelt	20 ccm Nährlösung mit 8 g Erde, nicht geschüttelt
1 : 1000 1 mg	10	9	8	10
1 : 5000 0,2 mg	6 3000	5 2500	7 3500	5 2500
1 : 25 000 0,04 mg	1 2500	1 2500	⊖	1 2500
1 : 100 000 0,01 mg	⊖	⊖	⊖	⊖

20 und 30 ccm Nährlösung verhalten sich in ihrer Wirkung vollständig gleich. Auch zwischen den geschüttelten Kolben und den nicht geschüttelten ist kein besonderer Unterschied vorhanden. Wieder ist bemerkenswert, daß in der Verdünnungsreihe 1 : 1000 bei Verwendung eines Erdzusatzes die negativen Proben durch eine ganz besonders starke Gasbildung auffielen. Sicherlich handelt es sich wieder um eine Unterdrückung des Wachstums eingeimpfter Azotobacterkeime, da ohne jeden Erdzusatz alle Kolben positiv waren.

Trotz der unzweifelhaften, das Wachstum von Azotobacter begünstigenden Wirkung von Humus und Erde erweisen die in diesem Abschnitt mitgeteilten Versuche, daß zur Keimzahlbestimmung in Bodenproben nach der Verdünnungsmethode die normale synthetische Nährlösung vollkommen genügt, daß ein Zusatz von Erde oder Humus nicht nötig ist. Die Verwendung von Erde mit nur zum Teil abgetöteten Keimen birgt die Gefahr in sich, daß bestimmte resistente Sporenbildner durch Säurebildung das Medium so stark verändern, daß das Aufkommen von Azotobacter verhindert wird. Dieser Nachteil fällt bei der Verwendung wenig gereinigter Humuspräparate, die höchst einfach herzustellen sind, weg. Ohne den Humuszusatz verlängert sich die Kulturdauer nur um wenige (2—4) Tage, was keine besondere Rolle spielt.

Will man, um eine Annäherung an die natürlichen Verhältnisse im Boden zu erzielen, nicht mit der rein synthetischen Nährlösung arbeiten, so empfiehlt sich die Verwendung eines wirksamen Humuspräparates. Wahrscheinlich ist auch absolut sterile, autoklav behandelte Erde brauchbar; Versuche wurden jedoch darüber nicht durchgeführt.

3. Vergleich der Keimzahlermittlung auf Agarplatten und in Nährlösungen.

Schon die im ersten Abschnitt dargelegten Versuche über die Deckenbildung in Azotobacterrohkulturen in Abhängigkeit von der Schichthöhe hatten die gegen die Verwendung von Nährlösungen erhobenen Einwände weitgehend entkräftet.

Wie bekannt, zeigt Azotobacter sowohl in Rohkulturen als auch in Reinkulturen auf Mannitagarplatten ein ausgezeichnetes Wachstum, wie es bei jedem Plattenguß zur Herstellung von Azotobacterreinkulturen beobachtet werden kann.

Der Vergleich der Agarplatten- mit der Nährlösungsmethode mußte also neue Aufschlüsse über die Verwendbarkeit von Flüssigkeiten geben. Dies-

bezügliche Versuche von Düggeli sprechen für die Brauchbarkeit der Nährlösungen. Das Ergebnis dieser Untersuchungen, daß mit der Agarplattenmethode nur etwa $^1/_{10}$ der in Flüssigkeitselektivkultur faßbaren Keime nachweisbar waren, scheint schwer verständlich. Es müssen in diesen Versuchen ganz besondere Umstände zu diesem Ergebnis beigetragen haben. Eine Wiederholung dieser Versuche schien deshalb wünschenswert.

Zur Herstellung des Agars (1,5%) fand dieselbe Nährlösung wie zu den Flüssigkeitskulturen Verwendung. Die Gußkulturen wurden in der Weise hergestellt, daß je 1 ccm Bodensuspension in den eben noch flüssigen Agar (10 ccm) eingetragen und dieser in Petrischalen ausgegossen wurde. Zur Anlegung der Ausstrichkulturen wurde der sterile Agar in die Schalen ausgegossen und erstarren gelassen, dann 0,4 ccm Bodensuspension aufgetragen und mit einem Drigalski-Spatel gleichmäßig über die ganze Oberfläche des Agars verteilt. Zum Verdunsten der überschüssigen Flüssigkeit kamen die unbedeckten Schalen in einen Trockenschrank (25°). Eine Luftinfektion war in dem abgeschlossenen Raum des Schrankes nicht zu erwarten und trat, wie Kontrollplatten zeigten, auch nicht ein. Bei den parallel ausgeführten Keimzahlbestimmungen in Nährlösungen (30 ccm pro Kolben) wurden die Kolben wie sonst mit je 3 ccm Suspension beimpft. Die verwendeten Bodensuspensionen waren selbstverständlich stets so gewählt, daß sie trotz der verschiedenen Impfvolumina immer die gleichen Erdmengen enthielten (z. B. bei „1 : 5000" stets 0,2 mg). In jeder Reihe und jeder Verdünnungsstufe wurden 10 Platten beimpft, 10 Kolben mit Erdzusatz (8 g, 2mal sterilisiert) und je 14 Kolben ohne Erdzusatz.

In der Tabelle (Tab. 7) ist die Zahl der positiven Kolben angegeben und die daraus errechneten Keimzahlen pro 1 g Erde. Für die Platten ist die durchschnittliche Zahl der Kolonien wiedergegeben.

Tabelle 7. Vergleichende Keimzahlbestimmungen in a) Nährlösungen (30 ccm, mit und ohne Erdzusatz) und b) auf Agarplatten (Guß und Ausstrich), je 10.
Agarplatten: Durchschnittliche Kolonienzahl pro Platte.
Nährlösungen: Zahl der positiven Kulturen von insgesamt 10 bzw. 14 Kolben.

	Guß-Agarplatten	Ausstrich-Agarplatten	Nährlösung ohne Erdzusatz	Nährlösung mit 8 g Erde
1 : 100	16,5	25,—	14 : 14	10 : 10
0,01 g	1650	2500		
1 : 1000	1,9	2,15	14 : 14	10 : 10
1 mg	1400	2150		
1 : 5000	0,4	0,2	6 : 14	5 : 10
0,2 mg	2000	1000	2150	2500
1 : 25 000	0,1	⊖	3 : 14	1 : 10
0,04 mg	2500		5350	2500

Die Ausstrichplatten waren neben den Gußplatten in der Annahme angelegt worden, daß bei oberflächlicher Beimpfung des Agars eine größere Zahl von Keimen zur Entwicklung und Kolonienbildung gelangen können, als wenn die Keime z. T. in der allerdings nicht dicken Agarschicht eingeschlossen sind. Das Ergebnis war überraschend: Gerade mit den Gußplatten wurden bessere Ergebnisse erzielt. Mit der Gußmethode steigt die nachweisbare Keimzahl von den Suspensionen 1 : 100 bis 1 : 25 000 von 1650 auf 2000 und 2500 an. Mit der Ausstrichmethode errechnen sich auffallenderweise um so niedrigere Keimzahlen, je stärkere Verdünnungen untersucht werden. Der Unterschied ist allerdings nicht sehr beträchtlich und betrug nicht mehr als 1 : 2. Da in einer weiteren Versuchsreihe ähnliche Erfahrungen gemacht wurden, scheint ein Zufall ausgeschlossen. Eine Erklärung ist nicht leicht zu geben. Vielleicht bleibt ein Teil der Keime beim

Verteilen der Impfflüssigkeit auf der Agaroberfläche am Glasspatel zurück, vielleicht sind einzelne Keime geschädigt. Es sei allerdings hervorgehoben, daß beim Verdunsten des überschüssigen Wassers sorgfältig darauf geachtet wurde, daß die Oberfläche des Agars nicht austrocknete. Ein Verdunsten des überschüssigen Impfwassers war unbedingt nötig. da durch flüssiges Wasser eine Verteilung angewachsener Keime möglich ist, wodurch höhere Keimzahlen vorgetäuscht werden können.

Die auf Agarplatten mit der Gußmethode nachgewiesenen Keimzahlen unterscheiden sich jedenfalls nicht wesentlich von den Zahlen, die mit der Flüssigkeitselektivkultur bestimmt wurden. Eine gewisse Überlegenheit der Flüssigkeitskulturen ist allerdings nicht zu verkennen und zeigt sich auch in der nächsten Versuchsreihe. Der Befund Düggelis von der Überlegenheit der Flüssigkeitskulturen gegenüber den Agarplatten deutet sich also auch in meinen Ergebnissen an, wenn auch bei weitem nicht so kraß wie bei diesem Autor.

Auf den Ausstrichplatten ist die Form der Azotobacterkolonien durchweg sehr typisch: es findet nur Oberflächenwachstum statt. In den Gußplatten bleibt ein Teil der Kolonien, die dann weniger charakteristisch sind, dauernd im Agar eingeschlossen. Daneben finden sich auf jeder Platte noch Hunderte anderer Bakterienkolonien. Nur in frühen Stadien kann die makroskopische Unterscheidung der Azotobacterkolonien Schwierigkeiten machen. In späteren Stadien haben die Azotobacterkolonien ihr typisches grauweißes, opakes Aussehen angenommen. Die folgende Braunfärbung erleichtert die Unterscheidung mit freiem Auge noch weiter.

Da die Agarplatten direkte Keimzählungen erlauben und auch bei Anwendung von Suspensionen, die für die Flüssigkeitsmethode noch nicht genügend verdünnt sind. Schlüsse auf die beiläufige Keimzahl ermöglichen, während die Flüssigkeitskulturen nur aussagen können, ob Azotobacter vorhanden ist oder nicht und nur bei Durchführung einer größeren Anzahl von Parallelversuchen brauchbare Zahlenwerte geben, wird die Agarplattenmethode trotz der ihr anhaftenden (nicht bedeutenden) Nachteile weite Verwendung behalten.

4. Der Vergleich mit der Keimzahlbestimmung nach Fehèr.

Eine letzte Versuchsreihe war besonders ausschlaggebend für die Frage nach Brauchbarkeit und Wert der Flüssigkeitselektivkultur zur Azotobacterkeimzahlbestimmung: der Vergleich mit der von Fehèr beschriebenen neuen Methode der Erdkultur. Das Ergebnis war für die einfacher durchzuführende Flüssigkeitskultur vollauf befriedigend. Die nach beiden Methoden bestimmten Keimzahlen stimmen sehr gut überein.

Die Sterilisation der zu prüfenden, im Verhältnis 1 : 1 mit reinem Sand gemischten Gartenerde erfolgte 5mal hintereinander durch 12 Std. (statt 3mal 24 Std.) im Trockenschrank bei 105°. Das Erde-Sandgemisch wurde dann in Eprouvetten bis zur halben Höhe eingefüllt, nachdem vorher so viel durchfeuchtet worden war, daß nach Beimpfung mit je 1 ccm Bodensuspension das Substrat den Wassergehalt hatte, der der Wasserkapazität entspricht. Eine weitere Sterilisation der Erde in den Röhrchen fand noch 3mal durch je eine Stunde in 24stündigen Intervallen im Dampftopf statt. Es wurden nicht nur 4 (nach der Vorschrift von Fehèr), sondern je 10 Röhrchen mit derselben Erdsuspension beimpft. Da es mir, wie schon dargelegt, ein Nachteil schien, daß von der Zugabe einer Kohlenstoffquelle abgesehen wird, stellte ich eine im übrigen gleich behandelte Versuchsreihe mit einem Zusatz von 1% Mannit auf. Die Prüfung, ob in den beimpften Röhrchen Azotobacter angewachsen war, wurde in doppelter Weise in Nährlösung und auf Agarplatten durchgeführt; das Ergebnis war vollkommen übereinstimmend.

Parallel der Keimzahlbestimmung nach Fehèr erfolgte die Prüfung auch mit je 10 Flüssigkeitskulturen (25 ccm) ohne Erdzusatz und mit Mannitagarplatten nach der Guß- und nach der Ausstrichmethode (gleichfalls je 10 Platten).

Tabelle 8 gibt die Ergebnisse wieder. Fehèr gibt an, daß die beimpften Erdkulturen nach 3—4 Wochen zu überprüfen sind. Die Prüfung der Reihe ohne Mannit fand nach 25 Tagen, die der Reihe mit Mannit nach 12 Tagen statt. Im Ergebnis war kein wesentlicher Unterschied. Weitere Versuche über die notwendige Versuchsdauer und über die Abkürzung der Inkubationszeit durch Mannitzusatz wurden nicht ausgeführt, da es mir nicht auf den Ausbau dieser Methode, sondern nur auf den Vergleich mit der Nährlösungs- und der Agarplattenmethode ankam.

Tabelle 8. Vergleich der Keimzahlbestimmung: a) in Nährlösung, b) auf Agarplatten (Guß und Ausstrich), c) mit Hilfe der Fehèr schen Erdkulturen (mit und ohne Mannit). Zahl der Kolonien pro Agarplatte bzw. Zahl der von 10 Kolben oder 10 Erdröhrchen positiven Kulturen.

	Guß. Agarplatten	Ausstrich-Agarplatten	Nährlösung ohne Erdzusatz	Erdkultur ohne Mannit	Erdkultur mit 1% Mannit
1 : 500	3,8	3,9	10	10	10
2 mg	1900	1950			
1 : 5000	0,4	0,3	6	7	6
0,2 mg	2000	1500	3000	3500	3000
1 : 25 000	0,1	⊖	2	1	2
0,04 mg	2500		5000	2500	5000
1 : 100 000	⊖	⊖	1	⊖	⊖
0,01 mg					

Die nach der Ausstrichmethode auf Agarplatten bestimmten Keimzahlen stehen den in Nährlösungen bestimmten etwas nach; eine Bestätigung der vorigen Versuchsreihe. Die Keimzahl pro Gramm Erde dürfte zwischen 2500 und 5000 liegen. Daß in der Reihe 1 : 100 000 noch ein Kolben positiv war, ist nur als Zufall zu werten und nicht für die Keimzahlberechnung zu verwenden.

III. Diskussion der Ergebnisse.

Durch die mitgeteilten Versuche ist wohl der lückenlose Beweis für die ausgezeichnete Brauchbarkeit von Flüssigkeitskulturen zur quantitativen Keimzahlbestimmung von Azotobacter eindeutig erbracht. Eine Nährlösung aus Leitungswasser, Mannit und den angegebenen Salzen genügt vollauf als Medium zum Wachstum auch nur einzelner eingeführter Azotobacterkeime. In dünner Schicht (25– 30 ccm in 250 ccm-Erlenmeyerkolben) steht auch der notwendige Sauerstoff zur Verfügung.

Die Plattenmethode, besonders als Gußmethode, liefert ähnliche, wenn auch nicht ganz so günstige Resultate.

Bei den Keimzahlbestimmungen muß stets besonderer Wert darauf gelegt werden, daß die Prüfung stärker verdünnter Suspensionen stets in einer Mehrzahl von Kulturen durchgeführt wird; bei Prüfung nur einer einzelnen Kultur sind die Ergebnisse viel zu leicht Zufälligkeiten ausgesetzt.

Die Versuche bringen die Rechtfertigung der Beijerinckschen Elektivkultur, deren Wert zur Keimzahlbestimmung meist völlig unterschätzt wurde, wenn man sie nicht völlig ablehnte, wie Winogradsky es tat.

Die Verwendung der Elektivkultur in Flüssigkeiten zur Keimzahlbestimmung hat vor allem den großen Vorteil der einfachen Ausführung.

So wertvoll auch die neue Methode der Erdkultur von Fehèr in anderen Fällen sein mag, und so gute Resultate sie liefert, so verdient im speziellen Fall der Azotobacterkeimzahlbestimmung die einfachere Elektivkultur in Nährlösungen doch den Vorzug.

Ohne entsprechende Versuche durchgeführt zu haben, möchte ich mir erlauben, zur Fehèrschen Methode zwei Änderungen vorzuschlagen. Fehèr verwendet prinzipiell zur Herstellung der Erd-Sandröhrchen den zu prüfenden Boden in der Tendenz, den natürlichen Verhältnissen möglichst nahe zu kommen. Handelt es sich um einen Boden, der für die betreffenden Keime günstige Bedingungen bietet, so wird die Entwicklung der mit der Erdsuspension eingeimpften Keime sehr schnell vor sich gehen. Anders aber in einem Boden, der wenig günstige Bedingungen bietet, der (am natürlichen Lagerungsort) nur eine geringe Zahl dieser Bakterien enthielt; hier geht die Entwicklung wesentlich langsamer vor sich und kommt vielleicht auch früher zum Stillstand. Zumindest für die wichtigsten physiologischen Gruppen der Bakterien scheint es vorteilhaft einen Boden zu verwenden, der die zu prüfenden Bakterien reichlich führt. Dann ist eine rasche Entwicklung der eingeimpften Keime gewährleistet; dem endgültigen Nachweis stehen keine Schwierigkeiten entgegen.

Ein Zweites, was schon für den Azotobacternachweis bemerkt wurde: Die Zugabe von Stoffen zu den Erdkulturen, die von den zu prüfenden Bakterien als Betriebsstoffe verwendet werden können (z. B. Mannit für Azotobacter) oder die für ein intensives Wachstum nötig sind (z. B. Phosphat) müßte zumindest eine starke Verkürzung der Versuchszeit ermöglichen.

Eine allen Anforderungen entsprechende fehlerlose Bestimmungsmethode von Bodenbakterien scheint mir nicht eine möglichste Nachahmung der Bodenverhältnisse in sich schließen zu müssen. Es ist vielmehr wünschenswert, alle die Entwicklung der Bakterien begünstigenden Faktoren zur Geltung zu bringen und alle hemmenden möglichst auszuschließen.

Meinem ehemaligen Chef, Herrn Professor Dr. F. C. Faber, erlaube ich mir meinen Dank abzustatten, daß er mir die Mittel des Institutes zur Ausführung dieser Arbeit zur Verfügung stellte.

IV. Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. In Rohkulturen wirkt sich die Sauerstoffbedürftigkeit von Azotobacter nicht so stark aus, wie bisher angenommen wurde. Bei Beimpfung mit großen Erdmengen war allerdings nur bis zu einer Schichthöhe der Flüssigkeit bis zu etwa 1 cm gute, durch Gasbildung ungestörte Deckenbildung zu erzielen, besonders wenn nur ungenügend sterilisierte Erde als Zusatz Verwendung fand. Bei Beimpfung mit geringen Erdmengen (10 mg) tritt dagegen in synthetischer Nährlösung gerade bei der bedeutenden Schichthöhe von 6—6,5 cm und relativ geringer Oberfläche die beste Deckenbildung ein.

2. Die in Nährlösungen mit Humus- oder Erdzusatz nachweisbaren Keimzahlen sind nicht höher als bei alleiniger Verwendung der Mannit-Salz-Nährlösung ohne jeden Zusatz. Die Zugabe von unvollkommen sterilisierter Erde birgt die Gefahr in sich, daß durch Überwuchern besonders säurebildender Bakterien Azotobacter unterdrückt wird.

3. Die Agarplattenmethode ergibt ähnliche Keimzahlen wie die Elektivkultur in Flüssigkeiten und steht bei Ausführung als Gußmethode dieser nur wenig nach.

4. Der Vergleich mit der neuen Fehèr schen Erdkulturmethode erwies die ausgezeichnete Brauchbarkeit von Nährlösungen zur Keimzahlbestimmung von Azotobacter.

5. Da die Verwendung von Flüssigkeiten auch in der Einfachheit der Ausführung allen anderen Methoden überlegen ist, verdient sie bei Keimzahlbestimmungen den Vorzug.

Literaturverzeichnis.

Baumgärtel, Fr. und Hartung, Versuche am Bodenmodell über den Einfluß von Mineralsalzen auf das Wachstumsbild von Azotobacter chroococcum in der Beijerinckschen Elektivkultur. (Landw. Jahrb. Bd. 65. 1927. S. 675.) — Beijerinck, M., Über oligonitrophile Mikroben. (Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 7. 1901. S. 568.) — Beijerinck, M., Über oligonitrophile Mikroben. (Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 8. 1901. S. 569.) — Bortels, H., Molybdän als Katalysator bei der biologischen Stickstoffbindung. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 1. 1930. S. 338.) — Burk, D., Lineweaver, H. und Horner, C. K., The physiological nature of humic acid stimulation. (Soil Sc. Vol. 33. 1932. p. 455.) — Burk, D., Lineweaver, H. und Horner, C. K., Iron in relation to stimulation of growth by humic acid. (Soil Sc. Vol. 33. 1932. p. 413.) — Curie, J. H., A method for the study of Azotobacter and ist application to fertility plot soils. (Soil Sc. Vol. 32. 1931. p. 9.) — Dianowa, E. W. und Woroschilowa, A. A., Azotobacterähnliche Bakterien im Boden. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 84. 1931. S. 433.) — Düggeli, M., Bodenbakteriologische Studien. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 38. 1924. S. 203.) — Düggeli. M., Studien über die Bakterienflora alpiner Böden. (Veröff. Geobotan. Inst. Rübel. Bd. 3. 1925. S. 204.) — Fehèr, D., Eine neue Methode zur Züchtung und quantitativen Erfassung der Lebenstätigkeit der Bodenbakterien. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 3. 1932. S. 362.) — Fehèr, D., Untersuchungen über die Mikrobiologie des Waldbodens. Berlin, J. Springer, 1933. — Gainy, P. L., On the use of calciumcarbonat in nitrogen fixation studies. (Journ. agric. Res. Vol. 24. 1924. p. 185.) — Gerlach und Vogel, Stickstoffsammelnde Bakterien. (Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 8. 1902. S. 669.) — Heinze, B., Einige Berichtigungen und weitere Mitteilungen zu der Abhandlung: Über die Bildung und Wiederverarbeitung von Glykogen durch niedere pflanzliche Organismen. (Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 14. 1905. S. 168.) — Jones, D. H. und Murdoch, F. G., Quantitative and qualitative bacterial analysis of soil samples taken in fall of 1918. (Soil Sc. Vol. 8. 1919. p. 259.) — Kaserer, H., Zur Kenntnis des Mineralstoffbedarfs von Azotobacter. (Ztschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich. Bd. 14. 1911. S. 97.) — Krzemieniewsky, S. und H., Zur Biologie der stickstoffbindenden Mikroorganismen. (Bull. intern. acad. Cracovie. 1906. p. 560.) — Löhnis, F., Ein Beitrag zur Methodik der bakteriologischen Bodenuntersuchung. (Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 12. 1904. S. 262.) — Prazmowsky, A., Azotobacterstudien. II. Physiologie und Biologie. (Bull. intern. acad. Cracovie. 1912. p. 855.) — Remy, Th. und Rösing, G., Über die biologische Reizwirkung natürlicher Humusstoffe. (Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 30. 1911. S. 349.) — Schröder, M., Die Assimilation des Luftstickstoffs durch einige Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 85. 1931. S. 177.) — Schwartz, W. und Müller, W., Einwirkung von künstlichen Düngern auf Bodenorganismen. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 2. 1931. S. 620.) — Söhngen, N. L., Einfluß von Kolloiden auf mikrobiologische Prozesse. (Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 38. 1913. S. 621.) — Stöckli, A., Die Azotobactermethode zur Bestimmung der pflanzenaufnehmbaren Phosphorsäure im Boden. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Bd. 43. 1929. S. 811.) — Stoklasa, J., Beiträge zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Azotobacter und Radiobacter. (Centralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 21. 1908. S. 484.) — Winogradsky, S., Etudes sur la microbiologie du sol. II. (Ann. Inst. Pasteur. T. 40. 1926. p. 455.) — Winogradsky, S. und Ziemiecka, J., Etudes sur la microbiologie du sol. (Ann. Inst. Pasteur. T. 42. 1928. p. 36.)

Nachdruck verboten.

Eine neue Pilzgattung, Hyalodendron.

[Aus dem „Centraalbureau voor Schimmelcultures", Baarn, Holland.]

Von **Harmanna A. Diddens.**

Mit 4 Abbildungen im Text.

Im Sommer 1933 übersandte Herr Professor Melin, Upsala, dem „Centraalbureau voor Schimmelcultures" eine Anzahl Holzpilzkulturen mit der Bitte, diese zu bestimmen. Diese Kulturen, welche alle ein mehr oder weniger hefeartiges Aussehen hatten, waren aus Holzschliff („ground pulp") isoliert und waren für die Untersucher von größtem Interesse, weil sie auf die Blaufäule-Pilze eine antagonistische Wirkung ausübten (5).

Während die meisten dieser Kulturen sich in Gattungen der Mycotoruleae einordnen ließen, konnten drei Kulturen, welche sich wenig voneinander unterschieden, weder hier, noch in andere bekannte Genera untergebracht werden.

Diese Kulturen zeigten entweder feuchte, grobhaarige, gefaltete, schmutzig-gelbe Kolonien oder solche, die oberflächlich eine reinweiße, trockene, fast pudrige Schicht bildeten. Trotz ihrem hefeartigen Aussehen besaßen sie echtes Myzel, das ungefärbt war. Die kleinen einzelligen hyalinen Konidien werden in Ketten gebildet, und während die Sprossung nicht bloß terminal, sondern auch pleural sein kann, entstehen einfache und verzweigte Ketten. Die Konidienträger sind entweder baumartig verzweigt, wobei in älteren Kulturen die Zellen der Träger sich kaum unterscheiden von den längeren, unteren Konidien, oder sie sind einfach (sich kaum abhebend vom Myzel) und tragen eine einfache Konidienkette. Die in erster Weise entstehenden „Konidienbäumchen" sind typisch für die neue Gattung, die ich Hyalodendron nennen will.

Bevor die weiteren Eigenschaften dieser Gattung und deren Spezies besprochen werden, will ich einige andere Genera anführen, welche die systematische Stellung von Hyalodendron erörtern sollen.

1. Die Art und Weise, in welcher sich die Konidien an baumartig verzweigten Trägern bilden, erinnert an die Gattung Hormodendrum (on) Bonord. Die betreffenden Kulturen, welche weiß sind, können hyaline Vertreter von Hormodendrum darstellen. Mit Rücksicht auf diese Ähnlichkeit soll hier auf die Arbeit von Dowson (3) hingewiesen werden, der einen Parasit der Platterbse, wegen seiner Identität mit einem weißen Hormodendrum cladosporioides (Fres.) Sacc. (Cladosporium herbarum Link), Cladosporium album nannte. Dieser Pilz sieht den obigen Holzpilzen ganz ähnlich; auch die typischen polaren Vorsprünge der Konidien, welche doch bei Cladosporium herbarum so bekannt sind, fehlen nicht bei den Melinschen Holzschliff-Pilzen; sie sind aber nicht immer vorhanden und, wenn sie da sind, bei den kleinen Sporen wenig auffallend. Bei stärkerer Vergrößerung sind diese Vorsprünge beim Stamm D_1a sehr deutlich (Abb. 1).

Abb. 1 (vergr. 1250×).

Es erscheint also berechtigt, die drei Melinschen Pilze und den Dowsonschen Pilz in ein und derselben Gattung unterzubringen. Der hyaline Pilz von Dowson würde auch besser nicht in die Gattung Cladosporium der Dematiaceae einzuordnen sein. Wie fraglich die künstliche Scheidung von Mucedinaceae und Dematiaceae auch sein mag, sie hat bei der Bestimmung ihre Vorteile: so schlage ich vor, das weiße Cladosporium von Dowson Hyalodendron album (Dowson) n. comb. zu nennen. Diese Art weicht in Sporengröße (2,5—5,5 × 3,5—15 μ durchschnittlich) und spezifisch parasitischem Benehmen von der Holzschliff-Spezies ab.

2. Die typischen Konidienbäumchen sehen genau so aus wie die von Oidiodendron Robak (9); bei dieser Gattung aber werden die Konidien durch Zerteilung spezieller Myzelfäden gebildet und nicht, wie bei Hyalodendron durch akrogene und pleurogene Sprossung.

3. Die Merkmale: hyaline Konidien in Ketten, baumartig verzweigte Konidienträger finden sich auch bei Monilia Gmelin, der imperfekten Form einerseits von Sclerotinia-Spezies, welche bei verschiedenen Obstbäumen Fruchtfäule hervorrufen, andererseits von saprophytischen Neurospora-Arten. Ausdrücklich sei betont, daß diejenigen hefeartigen, asporogenen Organismen, welche oft unrichtig „Monilia" genannt werden (Mycotoruleae; Lit.: 1, 2, 4) selbstverständlich mit der Gmelinschen Gattung nichts gemein haben.

Die Gattung Monilia gehört zu zwei weit auseinander liegenden Genera der Askomyzeten und Diskomyzeten; das Aussehen und Wachstum dieser beiden Monilia-Typen, welche voneinander schon stark abweichen, sind von den schwedischen Holzschliffpilzen ganz verschieden. Zudem sind die Monilia-Konidien, welche meistens sehr regelmäßig zitronen- oder tonnenförmig aussehen, viel größer (die kleinsten messen 6 × 8 μ; die größten bis 12 × 26 μ); die polaren Vorsprünge der Konidien fehlen; außerdem ist ihr Wachstum nie hefeartig; die Sclerotinien zeigen überdies bei dem größten Teil ihrer Vertreter typische Merkmale wie die Mikrokonidien und die Disjunktoren.

Daher passen die Holzschliff-Pilze schon in Hinsicht auf diese Unterschiede nicht in die Gattung Monilia hinein. Wie fraglich die Einheitlichkeit der Gattung Monilia auch sein mag, darauf will ich an dieser Stelle nicht näher eingehen; es scheint mir darum auch besser, diesen Namen vorläufig für die Konidien-Form der beiden wenig verwandten Gattungen Neurospora Shear et Dodge und Sclerotinia Fuckel zu behalten.

Diagnose der Gattung Hyalodendron n. g. (nach Kulturen): Ungefärbtes, verzweigtes, septiertes Myzel, teils im Substrat untergetaucht, teils kriechend oder aufrecht; Konidienträger sind typisch mehr oder weniger baumartig verzweigt (die Träger bestehen dann meistens aus wenigen ovalen Zellen, bisweilen septiert, durch ganz schmale Zwischenstücke verbunden); außerdem gibt es auch häufig einfache Träger, oft kaum differenziert, so daß es sein kann, daß die Konidienkette direkt am Myzel sitzt; die einzelligen hyalinen Konidien werden in einfachen oder verzweigten Ketten durch Sprossung gebildet; sie sind meistens kleiner als bei Monilia Gmelin.

(Diagn.: Hyphis hyalinis, decumbentibus, repentibus vel ascendentibus, ramosis, septatis; conidiophoris arboriformis-ramosis; interdum etiam conidiophoris simplicibus, paulum vel non formatis; conidiis continuis, hya-

linis in catenis simplicibus vel ramosis, formatis pullulando [minoribus quam in genere Moniliae].)

Die drei Kulturen von Melin, welche zu der neuen Gattung gehören, waren alle isoliert von Holzschliff: Herr Professor Melin gab dazu die folgenden Bemerkungen über deren Herkunft:

„D_1, 393 : 6, Medelpad, Torp, Torpshammar, Papier-Mühle, XII, 1931; 12 000 Sporen per Gramm Trockensubstanz des Holzschliffs." Bei Aussäung auf Platten lieferte diese Kultur zwei Stämme, welche sich im makroskopischen Aussehen ziemlich stark unterschieden und D_1 a bzw. D_1 b benannt wurden.

„D_1, 393 : 7, Hülsningsland, Iggesund, Papier-Mühle, II, 1932 (200 000 Sporen per Gramm Trockensubstanz des Holzschliffs)".

„E, 393 : 8, Värmland, Trankil, Lennartsfors, Papier-Mühle, XI, 1931 (reichlich)."

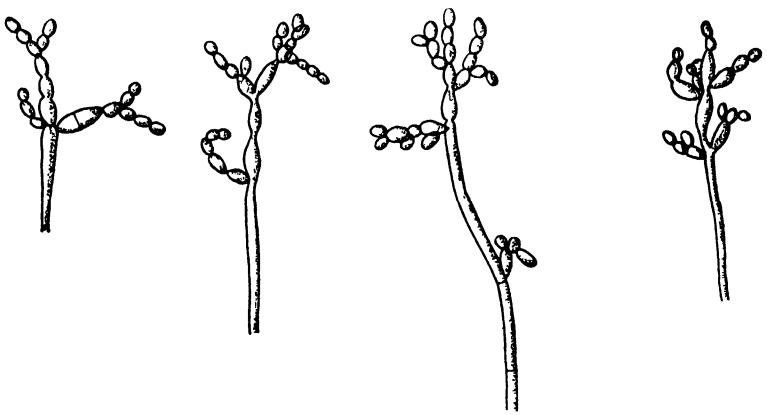


Abb. 2 (vergr. 600×).

Diese 4 Kulturen gehören zu ein und derselben Art: Hyalodendron lignicola n. sp.; obgleich sie 4 Stämme dieser Spezies darstellen könnten, zog ich es vor, D_2 und E, eines typischen Merkmals wegen, als 2 Formen dieser Art zu beschreiben.

Diagn.: Hyalodendron lignicola n. sp.: Die für die Gattung charakteristischen Konidienbäumchen sind mehr oder weniger ausgebildet; beide Typen Konidienträger sind vorhanden; die Konidien sind größtenteils oval bis länglich, es gibt auch welche von unregelmäßiger Form; wenig ausgeprägte, polare oder seitliche Vorsprünge der Konidien sind nicht immer vorhanden; die Konidien messen im Durchschnitt (160 Messungen) 2,3 × 4,8 μ; 1,5—3,5 × 2,5—12 μ; hierbei ist zu beachten, daß die äußersten Maße nur ausnahmsweise vorkommen; die sehr großen „Konidien" stellen vielleicht Zellen der Träger dar; die meisten Konidien messen 2—2,5 (80%) × 2,5—6 μ (85%).

Gefunden in Holzschliff schwedischer Papiermühlen. Auf Kultursubstraten entweder feucht, grobhaarig, schmutzig-gelb gefärbt, oder mit sehr feinhaariger, reinweißer, trockener Oberfläche (Abb. 2).

(Diagn.: Conidiophoris arboriformis aut simplicibus; conidiis ovoideis vel oblongis, interdum irregularibus, non saepe ornatis minimis projecturis,

2.3 × 4.8 μ (1.5—3.5 × 2.5—12 μ); minimae et maximae mensurae sunt rarissimae; major pars: 2—2.5 (80%) × 2.5—6 μ (85%).

Hab. in pulpa artificiali ligni in Suecia. In substrato artificiali cultum et observatum.)

Wie gesagt, lieferte eine Aussäung der Kultur D_1 zwei Stämme, welche makroskopisch deutlich verschieden waren, in mikroskopischer Hinsicht aber kaum voneinander abwichen. Da es in einer Riesenkolonie von D_1 a auf Bierwürze-Agar (welche bei diesem Stamm typisch pudrig-weiß ist) einmal einen Sektor gab mit dem schmutzig-gelben feuchten Aussehen von D_1 b, so scheint die Existenz von zwei Saltanten der H. lignicola möglich. Da nicht ganz sicher mit Einspor-Kulturen gearbeitet wurde, so bleibt diese Annahme unbewiesen.

Die beiden anderen Stämme D_2 und E hatten jeder ein typisches Merkmal, was Anlaß gab zu der Benennung zweier Formen der neuen Spezies:

D_2: H. lignicola n. sp. f. undulatum n. f. hat typisch wogenförmiges Myzel und bisweilen spiralig gerollte Hyphenenden (Abb. 3).

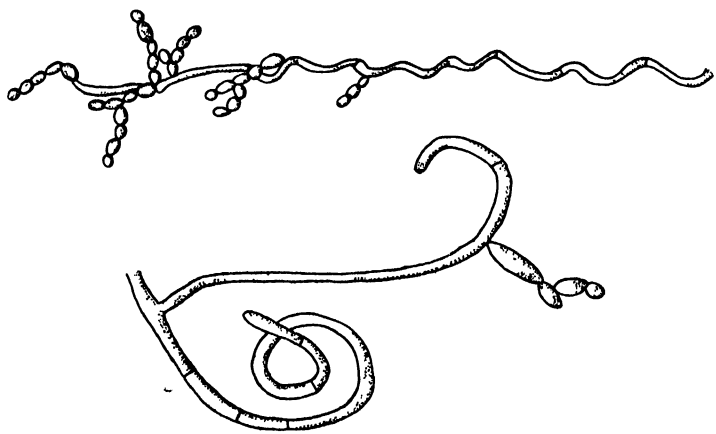


Abb. 3 (vergr. 600×).

(Hyphis undulatis, interdum in spiris.)

E: H. lignicola n. sp. f. simplex n. f. hat mehr einfache Konidienketten, oft senkrecht auf den Hyphen, als die für die Gattung charakteristischen Konidienbäumchen (Abb. 4).

(Vulgo conidiophoris simplicibus cum catenis conidiorum simplicibus saepe perpendiculatis in hyphas.)

Zum Schluß sei über die Kulturbedingungen noch einiges bemerkt: Die morphologischen Merkmale wurden zum größten Teil bei Kulturen in Kartoffel-Wasser in feuchten Kammern studiert; einige Beobachtungen wurden an Objektglas-Kulturen gemacht, welche mit Pepton (1%)-Glukose (2%)-Agar hergestellt wurden, wie Rivalier und Seydel es beschreiben (7, 8).

Wie schon erörtert wurde, zeigt Hyalodendron lignicola üppiges Wachstum (bei 25° C) auf verschiedenen Nährböden: Mohrrübe, Kartoffel, Bierwürze-Agar und -Gelatine, Pepton-Glukose-Agar; auf Holz (Acer, Pinus) wuchs der Pilz verhältnismäßig spärlich.

Die beiden Wachstums-Typen: weißpudrige und schmutzig-gelbe, feuchthaarige Oberfläche waren zumal in Riesenkolonien auf Bierwürze-Agar charakteristisch; auf diesem Boden zeigte es sich, daß D_1 a und D_2 zum ersten, D_1 b und E zum zweiten Typ gehörten.

Nähere Angaben über physiologische Eigenschaften dieser Kulturen werden in einer Arbeit aus dem Botanischen Institut, Upsala, Schweden publiziert (6, im Drucke).

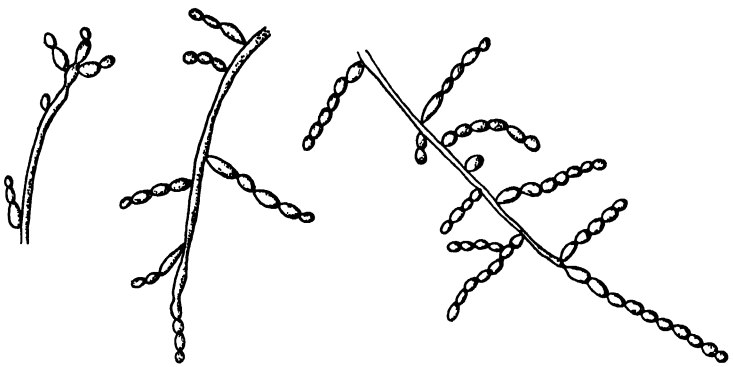


Abb. 4 (vergr. 600×).

Zusammenfassung.

In vorliegender Arbeit wurde auf Grund von Pilzkulturen aus schwedischem Holzschliff eine neue Pilzgattung Hyalodendron mit einer Art H. lignicola und zwei Formen: f. simplex und f. undulatum beschrieben. Gleichzeitig wurde Cladosporium album Dowson in dieser neuen Gattung untergebracht.

Literatur.

1. Berkhout, C. M., De schimmelgeslachten Monilia, Oidium, Oospora en Torula. Diss. Utrecht 1923 (Edauw & Johannissen, Scheveningen). — 2. Ciferri, R., and Redaelli, P., Studies on the Torulopsidaceae. (Ann. Mycol. Vol. 27. 1929. No. 3/4. p. 243.) — 3. Dowson, W. J., Contributions from the Wisley Laboratory, XLIV A new disease of sweet peas. (Journ. of the Roy. Hort. Soc. Vol. 49. 1924. P. 2.)— 4. Langeron, M., et Talice, R. V., Nouvelles méthodes d'étude et essai de classification des champignons levuriformes. (Ann. d. Parasitologie hum. et comp. T. 10. 1932. No. 1. p. 1.) — 5. Molin, E., Zur Frage des Antagonismus zwischen freilebenden Mikroorganismen. Untersuchungen an Holzschliff. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933.) — 6. Molin, E., and Nannfeldt, J. A., Researches into the blueing of ground wood-pulp. (Svenska Skogsvårdsfören. Tidskr. 1934 [im Druck].) — 7. Rivalier, E., et Seydel, S., Cultures minces sur lames gélosées colorées et examinées in situ en préparations définitives, pour l'étude des Cryptogames microscopiques. (Compt. rend. d. séances d. l. Soc. d. Biol. T. 110. 1932. p. 181.) — 8. Rivalier, E., et Seydel, S., Nouveau procédé de culture sur lames gélosées appliqué à l'étude microscopique des champignons des teignes. (Ann. d. Parasitologie hum. et comp. T. 10. 1932. No. 5. p. 444.) — 9. Robak, H., Investigations regarding fungi on Norwegian ground wood pulp and fungal infection at Wood Pulp Mills. (Nyt Magazin for Naturvidenskaberne. Bd. 71. 1932. p. 185.)

Nachdruck verboten.

Eine Bakteriose an Chrysanthemen.

[Aus der mikrobiologisch-chemischen Abteilung der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem.]

Von C. Stapp.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Von einer Gärtnerei in Westfalen wurden Anfang August 1932 der Biologischen Reichsanstalt einige Topfpflanzen von großblumigen Chrysanthemen (Chrysanthemum indicum L.), eintriebige Züchtung, eingeschickt, bei denen die Blätter erkrankt waren. Die Krankheit äußerte sich in einer verschieden starken Dunkelfärbung bestimmter Blattpartien. Der Einsender bezeichnete die Krankheit als „Schwarzrandigkeit" der Chrysanthemen und wies darauf hin, daß die Sorten „Deutsche Kaiserin" und „Sax-Export" sich als besonders anfällig gezeigt hätten, während die gleichzeitig gezogenen Sorten „Monument" und „Pulling" Krankheitserscheinungen „vorläufig" noch nicht hätten erkennen lassen.

Nach Durchführung der empfohlenen Bekämpfungsmaßnahmen ist die Bakteriose im darauffolgenden Herbst, also 1933, an den Chrysanthemen in der gleichen Gärtnerei nicht wieder aufgetreten.

Abb. 1. Spontaninfektion am Blatt der Chrysantheme „Deutsche Kaiserin".

Krankheitsbild.

Die Pflanzen zeigten an den älteren, ungleichmäßig fiederspaltigen Blättern vorwiegend von den Spitzen ausgehend nach der Mitte zu sich hinziehend mehr oder weniger tiefschwarze Verfärbungen (siehe Abb. 1). Während bei einzelnen Blättern nur ein oder zwei Spitzen angegriffen waren und die Zonen nur etwa ½—1 cm tief in das Blatt hineinreichten, waren bei anderen die Spitzen bis 6 oder 8 cm tief verfärbt, zum Teil reichten die verfärbten Zonen an ein und demselben Blatt recht verschieden weit. Aber auch Blattflecke auf der mittleren Blattlamina waren vereinzelt vorhanden. Chlorotische Ränder an den Krankheitsstellen waren im allgemeinen nicht wahrnehmbar. Bei älteren Blättern trockneten die ver-

färbten Partien allmählich ein, die Dunkelfärbung ging dann z. T. mehr in Braun über und es traten Verkrümmungen auf, dadurch wurden die Blätter unansehnlich und die Pflanzen im Handelswert stark herabgesetzt.

Bei der mikroskopischen Prüfung der Blätter fielen auf Querschnitten, die kranke Stellen einschlossen, zoogloeenartige Anhäufungen von Bakterien zwischen den Pallisadenzellen der dunkel verfärbten Partien auf.

Daß auch aus anderen Ursachen heraus, zum Beispiel bei Befall der Chrysanthemen durch den Nematoden Aphelenchus ritzema bosi Schw. Dunkelfärbungen der angegriffenen Blattlamina sich zeigen, die ohne weiteres nicht immer von den durch die Bakterien hervorgerufenen unterschieden werden können, darauf sei an dieser Stelle ausdrücklich hingewiesen. Vielfach geht die dunkle Färbung hier allerdings mehr ins Graue über. Mikroskopisch läßt sich selbstverständlich leicht das Vorhandensein der Nematoden feststellen.

Gewinnung des Krankheitserregers.

Von dem Material wurden kleine Stückchen herausgeschnitten, diese mehrmals mit sterilem Wasser im Reagenzröhrchen abgespült, dann ein Teil entnommen, sehr fein zerschnitten und auf lackmusblau-neutralem Bouillon-Agar in Petrischalen ausgelegt, der andere Teil mit sterilem Spatel in einigen Kubikzentimetern Wasser zerquetscht und von der dadurch erhaltenen Suspension je eine Plattenserie (nach der Verdünnungsmethode nach Koch) mit lackmusneutralem Kartoffel-Agar und eine mit 1 + 3 verdünntem sauren Würze-Agar angelegt. Um jedes Blattstückchen herum entwickelte sich in dem einen Fall ein starker Bakteriensaum. In den beiden anderen Fällen entstanden ziemlich gleichaussehende Kolonien auf den Platten, von denen Abimpfungen gemacht und diese im Infektionsversuch an bis dahin gesunden Blättern derselben eingesandten Pflanzen auf ihre Pathogenität geprüft wurden. Während die vom Kar-

Abb. 2. Künstlich mit Bakterienreinkultur infiziertes Chrysanthemenblatt.

toffel-Agar abgenommenen Kolonien nach mehreren Tagen keinerlei Wirkungen auf die Blätter zeigten, waren die Infektionserfolge mit den Abimpfungen von Würze-Agar deutlich. Bereits nach zwei Tagen hatten sich bei Gewächshauspflanzen an den Einstichstellen große braun-schwarze Flecke gebildet, die in den nächsten Tagen an Größe noch etwas zugenommen hatten (vgl. Abb. 2), dann sich aber über mehrere Tage unverändert hielten, bis schließlich die dunklen Stellen unter Braunfärbung vertrockneten und zuweilen das ganze befallene Blatt einging.

Die Wiederholung der Infektionen an den gleichen Pflanzen — jedes Blatt wurde durch mehrere Nadelstiche infiziert — und an einer kleinblättrigen, vielblütigen Chrysantheme unbekannter Herkunft hatte dasselbe Ergebnis.

Die virulenten Stämme wurden zur Sicherheit hinsichtlich der Reinheit der Kulturen nochmals durch die Platte geschickt, und die so gewonnenen Subkulturen wurden abermals an Chrysanthemen geprüft, und zwar mit dem gleichen Erfolg wie vorher. Aus den mit Reinkulturen erzeugten Krankheitsherden wurden schließlich die Bakterien reisoliert.

Beschreibung des Erregers.

Er ist ein Stäbchen mit polarer Begeißelung, und zwar sind bis zu 5 Geißeln an einem Pol gezählt worden. In 2 Tage bei 26° C gehaltenen Bouillon-Agarkulturen besitzen die Stäbchen eine Dicke von 0,6—0,8 μ und eine Länge von 1,2—3,6 μ, meist sind sie 0,6—0,7 $\times$ 1,8—3,0 μ groß. Auf Kartoffel-Agar sind die Stäbchen durchschnittlich kürzer, meist nur 1,2—2,0 μ lang und auf Möhren-Agar in der Länge mehr mit denen auf Bouillon-Agar übereinstimmend, in der Dicke dagegen häufig bis 1,0 μ messend. Das Bakterium färbt sich nicht nach Gram. An Reservestoffen wird hin und wieder etwas Volutin und gelegentlich auch etwas Fett gespeichert. Glykogen und Iogen waren nicht nachweisbar. Volutin und Fett ließen sich vor allem in den etwas dickeren Zellformen einer mehrtägigen Möhren-Agarkultur feststellen; in keinem Fall war die Ablagerung beträchtlich.

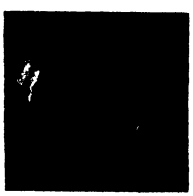


Abb. 3. Kolonie des bakteriellen Erregers auf Bouillonagar; mehrfach vergrößert.

Auf Bouillon-Agarplatten bildet er runde, ziemlich flache transparente, etwas opaleszierende Kolonien mit ganz schwach gewelltem Rand. Auf den Kolonien entsteht nach 2—3 Tagen zentral eine knopfförmige Erhebung, die nach weiteren 2 Tagen noch deutlicher, plastischer hervortritt, und schließlich bildet sich in der Peripherie ein ringförmiger Wulst, der in eine dünne Randzone ausmündet (siehe Abb. 3).

Auf Gelatine-Bouillonplatten tritt schalenförmige Verflüssigung auf und die Kolonieformen werden nicht deutlich erkennbar.

Auf Bouillon-Schrägagar ist nach 24 Std.[1]) deutliche Fluoreszenz und ein für einen Fluoreszenten verhältnismäßig kräftiges Wachstum eingetreten. Die Beläge sind schmutzig-gelblich-weiß, feuchtglänzend, transparent. Die Entwicklung von Stamm III ist im allgemeinen etwas besser als die der anderen Stämme. Nach 48 Std. ist das Maximum der Ent-

[1]) Wenn nichts anderes angegeben, ist die Bruttemperatur für Gelatinenährböden etwa 18—20° C, für alle anderen 26° C.

wicklungsstärke bei allen Stämmen erreicht. Die Fluoreszenz ist auch nach 8 Tagen noch deutlich.

Auf Kartoffel-Agar ist die Transparenz auffallenderweise noch stärker als auf Bouillon-Agar, infolgedessen heben sich die Beläge nur sehr wenig vom Substrat ab. Die Belagstärke ist etwa gleich der von Bouillon-Agar. Fluoreszenz tritt nicht auf.

Auf Möhren-Agar sind die Beläge gleichfalls sehr transparent, stark schleimig glänzend und ein wenig dicker als auf Bouillon-Agar.

Auf dem gewöhnlichen sauren Würze-Agar findet keine Entwicklung statt.

Auf Würze-Agar, 1 + 3 verdünnt, ist die Entwicklung verzögert, und es tritt nur bei sehr kräftiger Impfung gleichmäßiges Wachstum auf dem ganzen Impfstrich auf, sonst nur an einzelnen Stellen, an denen das Wachstum dann allerdings verhältnismäßig üppig wird.

Auf derartig verdünntem und gleichzeitig neutralisiertem Würze-Agar ist das Wachstum sehr gut.

Im Bouillon-Gelatinestich tritt langsam erst schalen-, dann mehr zylinderförmige Verflüssigung ein; nach 7—8 Wochen ist die gesamte Gelatinesäule verflüssigt.

In Bouillon ist nach 4 Tagen eine sehr geringe Trübung und ein bedeutender Bodensatz festzustellen. Nach 9 Tagen ist die Trübung etwas verstärkt, und Fluoreszenz ist eingetreten; nach 14 Tagen hat sich ein dünnes, leicht absinkendes Oberflächenhäutchen gebildet. Nach 4 Wochen ist der Bodensatz etwas verstärkt, sonst unverändert. Nach 6 Wochen ist die Bouillon noch getrübt, und es hängen von der Oberflächenmitte aus zarte Schleimflöckchen und Fäden herunter. Fluoreszenz ist nicht mehr vorhanden, dafür hat die Bouillon eine sattgelbe Farbe angenommen.

Milch wird ohne vorherige Koagulation peptonisiert. Nach 4 Wochen war bei Stamm I, nach 6 Wochen bei Stamm II und Stamm III die Aufhellung vollständig.

In Lackmusmilch geht die Peptonisierung in der gleichen Weise vor sich wie in gewöhnlicher Milch, ein Umschlag des Farbstoffes in Rot wird nicht beobachtet, nach 4 Tagen ist der Lackmusfarbstoff bereits vollständig in die Leukobase umgewandelt.

Auf Kartoffelscheiben bilden sich schmutzig-gelblich-bräunliche Beläge von schleimig glänzendem Aussehen, aber mehr butterartiger, nicht schleimig-fadenziehender Konsistenz. Die Kartoffel selbst wird ebenfalls bräunlich verfärbt.

Auf Möhrenscheiben entsteht ein dünnschleimiger weißlicher Überzug, eine Erweichung der Möhren findet nicht statt. Nach wenigen Tagen schon sind die Möhrenscheiben von einem dünnen Schleim eingehüllt.

In Uschinsky-Lösung zeigt sich nach 2 Tagen in der oberen Flüssigkeitsschicht Trübung, am 4. Tage beginnt die Fluoreszenz, und es wird am Glasrand ein Ring gebildet. Im Entstehen begriffene Häutchen sinken immer wieder ab.

In Fermi-Lösung tritt ebenfalls Fluoreszenz, Ring- und Häutchenbildung auf, doch etwas schwächer als in Uschinsky-Lösung. Mikroskopisch finden sich unter anderem nach einer Woche stark aufgeblähte Zellen mit deutlich differenziertem Plasma.

In Cohn-Lösung findet nur sehr schwache Entwicklung statt.

Indol wird nicht gebildet.

Nitrat wird reduziert.
Das Stärkehydrolysierungsvermögen fehlt.

Verhalten gegenüber verschiedenen C-Verbindungen.

In einem Nährmedium folgender Zusammensetzung: Asparagin 0,2%, $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ 0,05%, KCl 0,1%, K_2HPO_4 0,1%, Agar 1%, Lackmuslösung 6% und Zusatz von 1% Glukose oder einer der nachgenannten C-Quellen: Fruktose, Saccharose, Laktose, Maltose, Raffinose, Arabinose, Xylose, Zellulose, Glyzerin, Erythrit, Mannit, Dulzit, Sorbit, Natriumformiat, -azetat, -laktat, -malonat, -tartrat, -zitrat wurde weder Säure noch Gas gebildet. In den Röhrchen mit den Alkalisalzen der organischen Säuren trat eine deutliche Verschiebung der Reaktion nach der alkalischen Seite zu ein.

Verhalten gegenüber verschiedenen N-Verbindungen.

Auf dem gleichen Nährsalz-Agar wie der bei der Prüfung der C-Verbindungen verwendete, jedoch ohne Zusatz von Lackmuslösung, aber 2proz. Agar und der einheitlichen C-Quelle Natriumzitrat sowie mit 0,2% Asparagin oder anderen N-Verbindungen, deren N-Gehalt dem von 0,2% Asparagin jeweils entsprach, wurde am besten α-Alanin verwertet, fast ebenso gut Asparagin, nicht ganz so gut Pepton. Ammoniumsalze und Nitrate kamen ebenfalls als N-Quellen in Frage. Auch Glykokoll und Harnstoff wurden verwertet. Schlecht war die Ausnutzung von Hexamethylentetramin.

Verhalten gegenüber verschiedenen Temperaturen.

Die Versuche wurden auf Bouillon-Agar durchgeführt.

Um 0° C herum trat noch langsames Wachstum ein. Bereits nach 10 Tagen sah man einen dünnen, gleichmäßigen Belag auf der Agarschrägfläche.

Bei 1—3,6° C ließ sich zwischen den serpentinartigen Ausstrichen nach 5 Tagen die Entstehung kleiner Einzelkolonien in dichter Anordnung erkennen; nach 14 Tagen waren die Ausstriche dicht bewachsen und in den Zwischenräumen ein gleichmäßiger dünner Belag entstanden.

Bei 5,1—6,3° C trat nach 3 Tagen bereits Andeutung von Fluoreszenz auf, die nach 5 Tagen deutlich wurde. Das Wachstum war nicht viel besser als in der nächstniedrigen Stufe.

Bei 9—9,5° C war nach 24 Std. ein ganz dünner Belag gebildet. Fluoreszenz war auch erst nach 3 Tagen eingetreten.

Bei 10,6—11,4° C war der Belag nach 24 Std. ein wenig deutlicher als bei 9—10° C, auch stellte sich Fluoreszenz schon am 2. Tage ein.

Bei 12,8—14° C Belag nach 48 Std. besser als in der vorhergehenden Stufe, sonst wie dort.

Bei 18,6—20° C nach 24 Std. deutliches Wachstum und schwache Fluoreszenz.

Bei 20—21,5° C nach 24 Std. noch etwas deutlicheres Wachstum und deutlichere Fluoreszenz.

Bei 23,8—24,4° C Wachstum und Fluoreszenz nach 24 Std. gut, Entwicklung noch ein wenig besser wie in der niedrigeren Temperaturstufe.

Bei 28° C wie bei 24° C.

Bei 30° C Entwicklung gegenüber 28° C nicht merklich verzögert.
Bei 31—32° C ganz geringe Entwicklungsverzögerung.
Bei 35° C ebenfalls.
Bei 37° C Wachstum nach 24 Std. noch immer deutlich, Fluoreszenz aber auch nach 48 Std. nur gering.
Bei 40° C keine Entwicklung und infolgedessen auch keine Fluoreszenz mehr.

Von 31° C aufwärts zeigte sich in den Kulturen eine gewisse Neigung zur Fadenbildung, die in den unteren Temperaturstufen nicht beobachtet wurde.

Der thermale Tötungspunkt lag zwischen 48 und 49° C.

Pathogenitätsprüfungen.

Alle Stämme wurden auf dem verdünnten saueren Würze-Agar weiter gehalten, es zeigte sich aber im Laufe des Winters, daß dieses Substrat auf die Dauer den Bakterien nicht zusagte. Ein Teil der Stämme ging darauf ein; deshalb wurden 3 Kulturen zur Weiterzüchtung ausgewählt und auf Bouillon-Agar[1]) übertragen. Mitte März 1933 wurde nun eine frisch austreibende Chrysantheme unbekannter Sorte von neuem infiziert. Die auf Bouillon-Agar gehaltenen Stämme I, II, III und außerdem von Stamm II eine in der Kolonieform etwas erhabener und eine flacher erscheinende Form zeigten sich noch sämtlich pathogen, die Symptome waren aber nicht mehr so deutlich wie im Herbst des Vorjahres und die Verfärbung mehr grau, nicht schwarz. Der Grund hierfür mußte entweder in der Chrysanthemensorte oder im Rückgang der Virulenz der Bakterienkulturen zu suchen sein. Die erstere Vermutung erwies sich als zutreffend. Es wurde die Sorte „Deutsche Kaiserin" beschafft und Infektionen an ihr fielen nicht nur positiv aus, sondern es trat hierbei auch die typische Dunkelfärbung der infizierten Gewebeteile auf.

Als nicht ganz so stark anfällig wie die „Deutsche Kaiserin" erwies sich „Sax-Export". Die Flecke wurden nicht so groß und meist auch nicht so schwarz. Nur sehr geringe oder gar keine Symptome zeigten nach künstlicher Infektion die Sorten „Monument" und „Pulling". Es haben damit die Beobachtungen des Einsenders experimentell ihre Aufklärung gefunden.

Die Bakterien vermögen nicht nur durch Wunden in das Blattinnere zu gelangen, sondern auch durch die Spaltöffnungen einzudringen.

An der sehr anfälligen Sorte „Deutsche Kaiserin" wurde noch eine Reihe anderer, zum Teil als phytopathogen bekannter Fluoreszenten geprüft, nämlich:

1. Pseud. tabaci, der Erreger des Wildfeuers beim Tabak (= Tab. C 7).
2. Pseud. medicaginis var. phaseolicola, der Erreger der Fettfleckenkrankheit der Bohnen (= Bo. 4).
3. Pseud. syringae, der Erreger der Fliederseuche (= Syr. a und Syr. 1).
4. Pseud. lachrymans, der Erreger der „Eckigen Blattflecken"-Krankheit der Gurken (= Gk. 2).
5. Ein Salat-pathogener Fluoreszent (= Sa. 1).
6. Pseud. fluorescens liq.
7. Pseud. fluor. non liq.
8. Pseud. pyocyan.

} ältere Stämme der eigenen Sammlung (Herkunft unbekannt)

[1]) Wenn von „Bouillon-Agar" schlechthin die Rede ist, ist stets lackmusneutraler gemeint!

9. Pseud. fluorescens liq.
10. Pseud. fluor. non liq.
11. Pseud. pyocyan.

} Stämme, die vor vielen Jahren aus der Bakteriologischen Abteilung der Landwirtschaftskammer Berlin bezogen waren (= B. J. L.)

12. Pseud. pyocyan.
13. Pseud. fluorescens liq.

} Stämme frisch bezogen aus der preußischen Landesanstalt für Wasser-, Boden- und Lufthygiene, Berlin-Dahlem (= L. A. W. B. L.)

14. Pseud. fluorescens liq. Stamm bezogen vom Reichsgesundheitsamt Berlin[1]) (= R. G. A.)

Mit Pseud. syringae van Hall[2]) wurden einzelne Infektionsstellen 2—3 mm groß und anfänglich dunkel, dann braun, ein Fortschreiten der Infektion war aber nicht zu beobachten.

Tab. 1. Agglutinationsversuch.

Verd.	Chrys. III	Chrys. I	Chrys. II	Syr. 1	Syr. a	Sa. 1	Gk. 2
1 : 50	++++/+++	++++/+++	++++/+++	++++	++++	0	++
1 : 100	++++/+++	++++/+++	++++/+++	++++	++++	0	+
1 : 200	+++	+++	+++	++++	++++	0	+
1 : 400	++	+++/++	+++/++	++++	++++	0	+
1 : 800	++/+	++	++	++++	++++	0	(+)
1 : 1000	+	+	+	++++	++++	0	(+)
1 : 2000	+	+	+	++++/+++	++++/+++	0	0
1 : 3000	+	+	+	++++/+++	+++	0	0
1 : 5000	+	+	+	+++	+++/++	0	0
1 : 8000	+	+	+	+++/++	++	0	0
1 : 10 000	+	(+)	+	++	+	0	0
Kontr.	0	0	0	0	0	0	0

Die Zeichen ++++ bis (+) charakterisieren die Stärke der Agglutination; wobei ++++ = voll-

Tab. 2. Agglutinationsversuch. Kaninchen-

Verd.	Syr. a	Syr. 1	Chrys. I	Sa. 1	Gk. 2	Tab. C 7	B. 4
1 : 50	++++	++++	++++	0	0	0	0
1 : 100	++++	++++	++++	0	0	0	0
1 : 200	++++	++++	++++	0	0	0	0
1 : 400	++++	++++	++++	0	0	0	0
1 : 800	++++	++++	+++	0	0	0	0
1 : 1000	++++	++++	+++	0	0	0	0
1 : 2000	++++/+++	++++/+++	+++	0	0	0	0
1 : 3000	+++	+++/++	+++	0	0	0	0
1 : 5000	++	++	+++/++	0	0	0	0
1 : 8000	++/+	++	+	0	0	0	0
1 : 10 000	+	+	(+)	0	0	0	1
Kontr.	0	0	0	0	0	0	0

[1]) Die Stämme 6—14 waren gerade zu Untersuchungen über eine Salatkrankheit gebraucht worden (über die an anderer Stelle berichtet wird) und sind, da genügend Pflanzenmaterial zu Infektionen zur Verfügung stand, in die vorstehenden Versuche einbezogen worden.

[2]) van Hall, C. J. I., Bidragen tot de Kennis der bakterieele Plantenziekten. 1902. S. 191.

Der Stamm Pseud. pyocyan. B. J. L. (also Nr. 11) vermochte die Blätter der Chrysanthemen auch schwach anzugreifen, doch waren die Symptome andere als die oben beschriebenen. Die Flecke blieben wesentlich kleiner, wurden nicht schwarz oder schwarz-braun, sondern mehr hellbraun oder durchsichtig und graubraun.

Die übrigen 12 Fluoreszenten hatten keinerlei pathogene Wirkung erkennen lassen.

Da die Pseud. syringae deutliche, wenn auch kleine Flecke auf den Blättchen hervorzurufen vermocht hatte, wurde umgekehrt geprüft, wie sich der aus den Chrysanthemen isolierte Erreger auf Syringa verhielt. Es wurden im April an jungen Freilandtrieben von Syringa vul-

Kaninchenserum: Chrys. III.

Tab. C 7	Bo. 4	Ps. fluor. liq.				Ps. fl. non. liq.		Ps. pyoc.		
		Sammlung	B. J. L.	R. G. A.	L.A.W. B. L.	Sammlung	B. J.L	Sammlung	B.J.L.	L A.W. B. L.
+++	+++/++	0	++++/+++	0	+	0	0	0	0	0
+++	(+)	0	+++	0	0	0	0	0	0	0
+++/++	(+)	0	+++/++	0	0	0	0	0	0	0
++	0	0	+++/++	0	0	0	0	0	0	0
++/+	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0
+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
(+)	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	(+)	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ständige Agglutination und (+) = sehr geringe Agglutination bedeuten; 0 = keine Agglutination.

serum: Pseud. syringae a.

Ps. fluor. liq.				Ps. fl. non. liq.		Ps. pyoc.		
Sammlung	B. J. L.	R. G. A.	L. A. W. B. L.	Sammlung	B. J. L.	Sammlung	B. J. L.	L. A.W. B. L.
0	++++/+++	++++	++/+	0	0	0	0	0
0	++++/+++	+++	(+)	0	0	0	0	0
0	+++	+++/++	0	0	0	0	0	0
0	+++	++/+	0	0	0	0	0	0
0	+++/++	(+)	0	0	0	0	0	0
0	++/+	0	0	0	0	0	0	0
0	+	0	0	0	0	0	0	0
0	(+)	0	0	0	0	0	0	0
0	(+)	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

garis und auch an abgeschnittenen, in Wasser stehenden Trieben im Gewächshaus Infektionen durchgeführt und zum Vergleich auch 2 Stämme von Pseud. syringae geimpft. Bereits 48 Std. nach der Infektion mit dem Chrysanthemum-Bakterium hatten die Zweige an ihren zarten Triebspitzen deutliche Krankheitssymptome aufzuweisen, die Blattspitzen

waren teilweise schon braun-schwarz und abgestorben. Die Reinkulturen von Pseud. syringae zeigten sich an dieser ihrer Wirtspflanze weniger virulent, was seinen Grund darin haben dürfte, daß diese Kulturen schon fast 10 Jahre auf künstlichem Substrat gehalten worden sind.

Im Freiland traten die ersten sichtbaren Infektionserfolge erst nach 4—6 Tagen auf.

Serologische Versuche.

Obwohl beim Vergleich der von van Hall gegebenen Beschreibung der Pseudomonas syringae mit dem Erreger der Chrysanthemum-Bakteriose sich stärkere Abweichungen feststellen ließen, war doch die Möglichkeit gegeben, daß beide Krankheitserreger verwandt, vielleicht sogar identisch sein würden. Um diese Frage sicher entscheiden zu können, wurden Kaninchen mit den zu vergleichenden Bakterien gespritzt und die gewonnenen Sera zu Agglutinations- und Präzipitationsversuchen verwendet. In den Agglutinationsversuchen (vgl. Tab. 1 u. 2) zeigte sich eine weitgehende Übereinstimmung der fraglichen Bakterienarten, die Syringenbakterien agglutinierten sogar das Chrysanthemum-Bakterienserum noch deutlicher als die Chrysanthemum-Bakterien selbst. Eine Mitagglutination bei Verwendung des Chrysanthemum-Bakterienserums trat auch mit Pseud. tabaci, Stamm C 7, bis 1 : 2000 auf und mit Pseud. fluor. liq. B. J. L. bis 1 : 3000. Der letztere Bakterienstamm wurde mit dem Pseud. syringae-Serum sogar bis 1 : 5000 agglutiniert, gar nicht dagegen der Tabakstamm, wohl aber die Pseud. fluorescens des Reichsgesundheitsamtes bis 1 : 8000.

Tab. 3. Präzipitationsversuch. Serum: Chrys. III.

Abs. Serum-Menge in ccm	Chrys. III	Syr. a	Sa. 2	Tab. C 7	Bo. 4	Ps. fl. liq. B. J. L.	Gk. 2	Gk. 4
0,1	+	+	0	0	0	0	0	0
0,05	+	+	0	0	0	0	0	0
0,01	+	+	0	0	0	0	0	0
0,005	+	+	0	0	0	0	0	0
0,001	0	0	0	0	0	0	0	0

Tab. 4. Präzipitationsversuch. Serum: Pseud. syringae a.

Abs. Serum-Menge in ccm	Syr. a	Sa. 2	Tab. C 7	Bo. 4	Ps. fluor. liq.		Chrys. III	Gk. 2	Gk. 4
					B. J. L.	R. G. A.			
0,1	+	0	0	0	0	0	+	0	0
0,05	+	0	0	0	0	0	+	0	0
0,01	+	0	0	0	0	0	+	0	0
0,005	+	0	0	0	0	—	(+)	0	0
0,001	+	0	0	0	0	—	0	0	0

Durch die Präzipitationsversuche (vgl. Tab. 3 u. 4) wurde der eindeutige Beweis erbracht, daß es sich bei den Chrysanthemum-Bakterien um eine

der Pseud. syringae völlig identische Bakterienart handelt, während Pseud. tabaci, sowie Pseud. fluorescens liq. B. J. L. und R. G. A. dieser Art verwandtschaftlich nur nahestehen.

Dieses Ergebnis ist insofern etwas überraschend, als die durch Pseud. syringae verursachte Fliederseuche nur im zeitigen Frühjahr in Erscheinung tritt, die Krankheit an Chrysanthemen sich aber erst im Herbst gezeigt hat.

Verhütungs- und Bekämpfungsmaßnahmen.

Da es sich um eine parasitäre Erkrankung handelt, sind Vorbeugungsmaßnahmen natürlich in den Fällen notwendig, wo in früheren Jahren diese Krankheit bereits aufgetreten war oder wo die Gefahr der Einschleppung besteht. Die Pflanzen sind dann möglichst nicht zu warm und vor allem nicht zu feucht zu halten; letzteres bezieht sich nicht auf Boden-, sondern auf atmosphärische Feuchtigkeit. Das Überbrausen ist zu unterlassen und für gute Durchlüftung ist Sorge zu tragen. Es ist stets zu berücksichtigen, daß das Eindringen der bakteriellen Parasiten in die unverletzten Blätter nur geschehen kann, wenn sich die Parasiten im Wasser auf der Blattoberfläche usw. frei bewegen können. Bei meinen Versuchen begann die Infektion bei unverletzten Pflanzen außer an den Blattspitzen, an denen sich Tröpfchen sammeln, vor allem an den napfförmig vertieften Stellen etwas gewellter Blätter, die hier als kleine Wasserbehälter fungieren.

Ist die Krankheit aber schon vorhanden, so sind alle erkrankten Pflanzen von den noch gesund erscheinenden zu trennen. Die sofortige Entfernung und Vernichtung der kranken und verdächtig erscheinenden Blätter ist zu veranlassen. Die so behandelten und noch gesunden Exemplare sind dann mit Kupferkalk- oder besser noch mit Kupfersodabrühe (Burgunderbrühe) zu bespritzen, denn es hat sich gezeigt, daß die außen den Blättern anhaftenden Bakterien dadurch derartig geschädigt werden, daß sie, soweit nicht direkte Abtötung erfolgt, nicht mehr ins Blattinnere einzudringen vermögen. Die Bespritzung ist gegebenenfalls in Abständen von 4 Wochen zu wiederholen.

Zusammenfassung.

Es wird über eine an großblumigen Chrysanthemen aufgetretene bakterielle Blattfleckenkrankheit berichtet, deren Erreger identisch ist mit der Pseudomonas syringae van Hall, dem Erreger der Fliederseuche. Zweckmäßige Verhütungs- und Bekämpfungsmaßnahmen werden angegeben.

Nachdruck verboten.

Über die Knöllchenbakterien des Cicer.

[Aus dem Mikrobiologisch. Laboratorium der Leningrader Staatl. Universität.]

Von S. G. Rasumowskaja.

Mit 5 Abbildungen im Text.

Als Ergänzungsquellen des Stickstoffgehaltes des Bodens werden die Knöllchenbakterien häufig verwertet, was wohl durch den ökonomischen Effekt, welchen diese Bakterien bedingungen, zu erklären ist. Nach den Angaben von Löhnis (1) kann dieses in den Knöllchen der Leguminosen lebende Bakterium jährlich von 50—100 und mehr Pfd. Stickstoff pro Acre fixieren. Allison (2) gibt bei der Besprechung einer Reihe von Ergebnissen an, daß die Assimilation des Stickstoffes jährlich bis zu 200 Pfd. pro Acre betragen kann, wobei jedoch die gewöhnliche Anhäufung des Stickstoffes nach seiner Meinung weniger als 100 Pfd. beträgt. Die Infizierung des Bodens mit Bakterien hat außer der Bereicherung an Stickstoff oft auch die Vergrößerung der Gesamternte und der Qualität derselben zur Folge. Diese Erhöhungen der Ernte und des Prozentgehaltes an Stickstoff bei der Infizierung stehen im Zusammenhang mit einer Reihe von Bedingungen und werden je nach dem Charakter des Bodens, des Impf- und des zu beimpfenden Materials usw. durch größere oder kleinere Zahlen ausgedrückt, worauf in einer Reihe von Arbeiten hingewiesen worden ist [Christensen (3), Nobbe und Richter, Wright (4), Whiting (5), Arny and Thather (6, 7), Israilsky (8) u. a.]. Interessante Ergebnisse erhielt das Biochemische Laboratorium des Instiutes für Angewandte Botanik in Leningrad (9, 10, 11). Nach den Angaben dieses Laboratoriums ergab eine Reihe von Pflanzen in den Anbauversuchen auf verschiedener geographischen Breite erhebliche Schwankungen in der chemischen Zusammensetzung der Samen, speziell im Prozentgehalt an Eiweiß. Bei anderen Pflanzen konnten jedoch solche Schwankungen nicht nachgewiesen werden. So wurden bei den Gersten aus verschiedenen Gegenden große Unterschiede im Prozentgehalt an Eiweiß gefunden, während bei einer Reihe von Leguminosen: Erbsen, Wicke, Linsen usw. fast keine Schwankungen des Eiweißgehaltes beobachtet wurden. Augenscheinlich waren diese Leguminosen dank der Anwesenheit der Knöllchenbakterien viel weniger von dem Stickstoffvorrat des Bodens abhängig; infolgedessen erfuhr die chemische Zusammensetzung der Samen keine Schwankungen. Solche Resultate wurden jedoch nicht bei allen Versuchen des genannten Laboratoriums erhalten. Erhebliche Schwankungen im Prozentgehalt an Eiweiß im Zusammenhang mit geographischen Faktoren wurden beim Cicer beobachtet. Ein und dieselbe Sorte des Cicer ergab in Sotschi (Kaukasus) 12,6% und in Minusinsk (Sibirien) 31% Eiweiß. Diese Beobachtung gab die Veranlassung zu der Annahme, daß dieser Unterschied in der chemischen Zusammensetzung vom Vorhandensein oder Fehlen der Knöllchenbakterien, welche die Bildung der Knöllchen verursachen, im Zusammenhang steht. In der Arbeit von Harrison und Barlow (12) wird darauf hingewiesen, daß von 30 Arten von Leguminosen nur bei 2, darunter auch beim Cicer, keine Knöllchen beobachtet wurden. Daraus kann man schließen, daß der Cicer öfters

auch ohne Knöllchenbildung wächst. Bei dem Versuchsanbau von Cicer auf einem Bezirk im Botanischen Garten der Leningrader Staatlichen Universität in Leningrad und Peterhof, wo zur selben Zeit noch andere Leguminosen mit üppiger Knöllchenbildung: Erbsen, Wicke, Klee, Bohnen u. a. wuchsen, erfolgte das Wachstum von Cicer ohne Knöllchen. So entstand die Frage der Gewinnung einer Kultur von Knöllchenbakterien des Cicer.

Auf das Vorhandensein von Knöllchen an den Wurzeln von Cicer weist in einer Arbeit M. G. Popow hin, welcher Knöllchen bei Cicer chorassanicum beobachtet hatte. Üppige Knöllchenbildung hat A. M. Pawlowa bei Cicer arietinum festgestellt. Diese Pflanzen erhielten wir aus der mittelasiatischen Abteilung des Institutes für Angewandte Botanik und sie dienten uns als Material zur Isolierung der Knöllchenbakterien des Cicer. Zur Anreicherung und zur Kultivierung diente flüssiger und fester Nährboden aus Bohnendekokt (1% eines Dekokts aus weißen Bohnen + 1% Saccharose mit Zugabe von 1½—2% Agar). Die Isolierung wurde nach einer üblichen Desinfektion des Knöllchens aus dem Querschnitt desselben vorgenommen. Auf diese Weise sind 8 Stämme von Cicerknöllchenbakterien erhalten worden. Nach ihren morphologischen und kulturellen Eigenschaften sind diese Kulturen fast identisch und unterscheiden sich voneinander nur etwas in der Größe der Zellen und der Geschwindigkeit des Wachstums. Wir geben hier eine kurze Beschreibung.

Bei der mikroskopischen Untersuchung in lebendigem Zustande stellt das auf Bohnenagar gezüchtete Cicerbakterium ein kleines Stäbchen von 0,3—1,5 μ Länge und 0,2—0,5 μ Breite dar. Die Form ist die eines nicht immer regelmäßigen Stäbchens, öfters kommen auch runde und eckige Zellen vor. Der Zellinhalt ist nicht homogen, das Lichtbrechungsvermögen desselben an den Zellenden ist größer, außerdem enthalten die Zellen in der Mitte oder am Rande lokalisierte, stark lichtbrechende Körnchen. Jede Zelle ist von einer gut sichtbaren Schleimschicht umgeben. Es ist uns mit Mühe gelungen, das Bewegungsvermögen der Bakterien festzustellen, in sehr jungen Kulturen kann man noch vorwärtsstrebende, schwankende Bewegungen einzelner Zellen beobachten, während der größte Teil der Zellen unbeweglich erscheint. Die Zellen sind am häufigsten einzeln, manchmal jedoch zu zwei und mehr zusammen gruppiert. Am besten lassen sie sich mit konzentrierten Lösungen der üblichen Farbstoffe färben. Sie sind gramnegativ. Die Abb. 1 zeigt eine Cicerbakterienkultur.

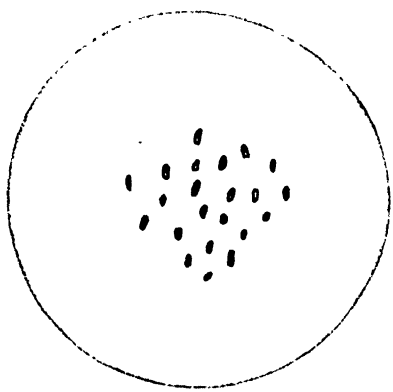


Abb. 1. Cicerknöllchenbakterien einer 4 tägigen Kultur auf Bohnenagar (Vergr. 1000).

Beim Wachstum auf einem Bohnen-Bouillon-Nährboden bilden sich gleichfalls Stäbchen; es kommen auch T-förmige Bakteriengruppen vor, echte Verzweigung der Zellen ließ sich nicht feststellen. Auf Bohnennährboden entwickeln die Knöllchenbakterien des Cicer ein üppiges Wachstum, wobei auf Agar eine halbdurchsichtige, weißgraue, schleimige Schicht, im Dekokt gleichmäßige Trübung gebildet wird.

Auf Fleisch-Pepton-Nährböden ist das Wachstum ein kaum bemerkbares; hier bilden sich kleine Stäbchen und aufgeblähte kugel- und birnenförmige, hefeartige Zellen, mit in der Mitte oder an den Enden konzentriertem Protoplasma; zuweilen ist die ganze Zelle mit Körnchen ausgefüllt.

Das Wachstum auf Kartoffeln ist ein höchst spärliches, wobei vergrößerte, abgerundete Zellen gebildet werden; Milch wird weder der Konsistenz noch der Farbe nach verändert; hier wächst das Bakterium in Form von kleinen Stäbchen, wobei Milch mit Zugabe von Lakmus sich etwas bläulich färbt. Zuweilen bildet sich eine durchsichtige Zone von höchstens ½ cm, doch nicht bei allen Stämmen. Gelatine wird durch die Cicerbakterien nicht verflüssigt, letztere wachsen bei der Stichkultur nur auf der Oberfläche. Zum Wachstum eignet sich eine Temperatur von 5—32° C, die größte Wachstumsgeschwindigkeit wird jedoch bei 25—28° beobachtet.

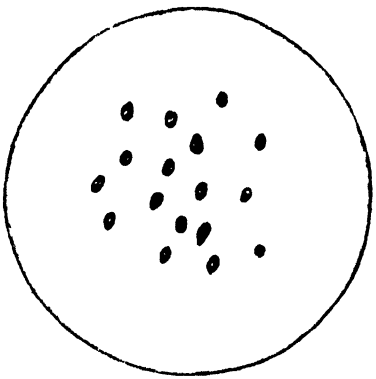


Abb. 2. Cicerbakterie aus dem Knöllchen während der Blühperiode der Pflanze (Vergr. 1000).

Die Cicerbakterien erfahren in den Knöllchen eine Reihe von morphologischen Veränderungen, letztere sind überhaupt den Knöllchenbakterien während ihres Wachstums in Pflanzen eigen. Die Cicerbakterien dringen in die Wurzeln der Pflanzen in Form von sehr kleinen, manchmal körnchenartigen Stäbchen ein und verweilen in diesem Zustand einige Zeit in den Knöllchen. Später nehmen sie an Dimensionen zu, werden dann rund, und während der Blühperiode der Pflanze sind alle Zellen des Bakteroidgewebes der Knöllchen mit ziemlich großen rundlichen Zellen dicht ausgefüllt. Dieses ist die allertypischste Form der Bakterien in den Knöllchen (siehe Abb. 2). Später werden die Zellen blasser und der Zellinhalt nicht einheitlich. Die bei den Erbsen üblichen verzweigten Formen bilden sich überhaupt nicht.

Mit allen erhaltenen Kulturen wurden Experimente auf Versuchsparzellen im Botanischen Garten der Leningrader Staatlichen Universität angestellt. Die auf Agar gezüchteten Bakterien wurden mit Wasser abgeschwemmt, und diese Suspension der Bakterien in Wasser diente zur Infizierung der Samen, wonach letztere sofort ausgesät wurden. Die Kontrollparzellen wurden mit nicht infizierten Samen besät; hier wuchsen die Pflanzen ohne Knöllchenbildung, während die infizierten gute Knöllchen ergaben.

Die Zahl der Knöllchen bei der Infektion mit verschiedenen Kulturen war jedoch nicht gleich — die meisten Knöllchen ergaben zwei im vorhergehenden Sommer (1930) aus frischen Knöllchen isolierte Stämme.

Zur obenerwähnten Infizierung mit den 8 Kulturen diente ein und dieselbe Sorte eines weißen Cicer mit mittelgroßen Samen. Auf einer anderen Parzelle wurde dieselbe Infizierung auch an weißen Cicersorten mit großen und kleinen Samen angewandt. Bei allen infizierten Pflanzensorten bildeten sich gute Knöllchen, während die Pflanzen der Kontrollparzellen ohne Knöllchen blieben.

Überhaupt in allen unseren Versuchen wurde auf den Kontrollparzellen keine Knöllchenbildung beobachtet; Knöllchen entstanden nur in dem Falle, wenn Cicerbakterien zugesetzt wurden. Der Umstand, daß Cicer Knöllchen

nur bei spezieller Infizierung bildet, zeugt von ausgesprochener Spezifität dieser Pflanzen zur Infektion durch diese Bakterien. Allein Simon (14) weist darauf hin, daß die Knöllchenbakterien von Cicer arietinum die Knöllchenbildung auch bei Pisum, Vicia und Lathyrus hervorrufen, und daß die Knöllchenbakterien dieser Pflanzen wiederum Cicer infizieren. Auf Grund dieser Beobachtungen ist Popow der Ansicht, daß die Cicerbakterien und die Knöllchenbakterien seiner nächsten Verwandten, der echten Vicieae, zu ein und demselben Typus gehören. Auch Walker (15) zählt den Cicer zu der ersten Gruppe, in der Pisum, Vicia und Lathyrus u. a. sich befinden.

In einer Reihe von Versuchen haben wir Cicer mit Bakterien aus Erbsen und Wicke infiziert (die Reinkulturen dieser Bakterien haben wir auf ihr Knöllchenbildungsvermögen bei den entsprechenden Pflanzen geprüft). In anderen Versuchen wandten wir zur Infizierung zerriebene, frische Knöllchen von Vicia sativa, Vicia cracca und Pisum sativum an. In allen Fällen erhielten wir dieselben Resultate: Knöllchen bildeten sich nur bei Zugabe von Knöllchenbakterien des Cicer, in allen anderen Fällen, ebenso wie in den Kontrollversuchen wurde niemals Knöllchenbildung beobachtet; so daß durch unsere Ergebnisse die Angaben von Simon keine Bestätigung fanden.

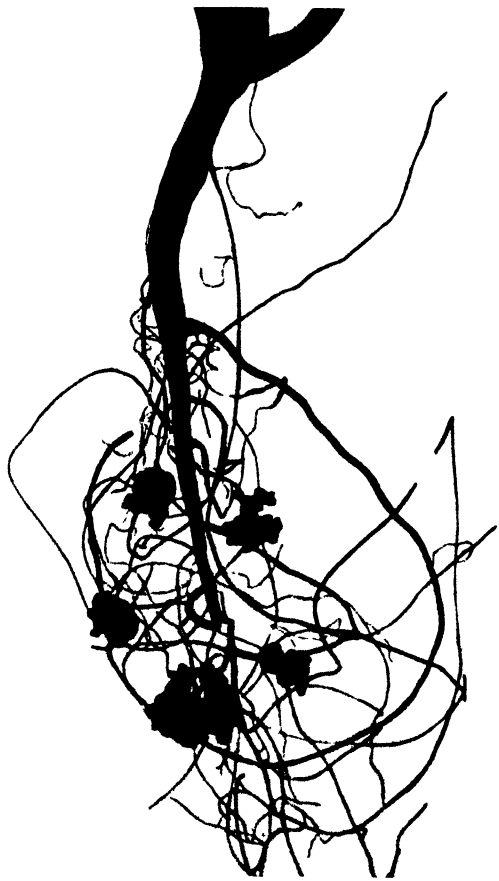


Abb. 3. Die traubenartigen Wurzelknöllchen des Cicer.

Im weiteren geben wir eine kurze Beschreibung der Cicerknöllchen selbst. Sie entstehen in Form von kleinen, runden, gelblich-weißen Anschwellungen. Darauf werden sie größer, teilen sich zuweilen in 2 Teile; manchmal bilden sich ganze Pakete (siehe Abb. 3). Die Knöllchen sind größtenteils an der Hauptwurzel, an den Ausgangsstellen der Seitenwurzeln, und auch an den letzteren selbst lokalisiert.

Der anatomische Bau der Knöllchen unterscheidet sich nicht von dem der anderen Knöllchen.

Die erhaltenen Kulturen, ebenso wie Erdproben aus Taschkent von

den Feldern, auf welchen Cicer mit Knöllchen wuchs, dienten als Infektionsmaterial für die Beobachtungen des Einflusses der Infektion auf das Gedeihen der Saat. Diese Versuche wurden in den Jahren 1930—1932 an einer Cicersorte mit mittelgroßen Samen (Nr. 286) auf den Versuchsparzellen des Botanischen Gartens der Leningrader Staatlichen Universität durchgeführt, wobei die infizierten und nicht infizierten Parzellen abwechselnd angeordnet waren. Die Resultate dieser Versuche zeigten, daß die infizierten Pflanzen kräftiger sind, der Färbung nach dunkler, stärker verzweigt, höher; das Wurzelsystem ist auch besser entwickelt und trägt eine Menge von Knöllchen. Die Blüh- und Fruchtperiode dieser infizierten Pflanzen tritt früher ein (dieser Unterschied im Aussehen der Pflanzen ist auf Abb. 4 wiedergegeben).

Abb. 4.
Links eine Pflanze von der Kontrollparzelle; rechts von der infizierten Parzelle.

Besonders stark bemerkbar war der Unterschied auf den Parzellen, welche im Laufe der zwei letzten Jahre infiziert und mit Cicer bebaut worden waren.

So war der Unterschied im Trockengewicht der Pflanzen dieses Versuches folgender:

Pflanzen	Trockengewicht in g (durchschnittlich)
Infizierte	43,4
Kontrolle	21,7

Nach der Quantität der Früchte der einzelnen Pflanzen blieben die Kontrollpflanzen im Vergleich zu den infizierten auch zurück, was aus folgenden Angaben ersichtlich ist:

Kontrollparzellen	38 Früchte
Infizierung (1 Jahr)	51 „
Infizierung (2 Jahre)	83 „

Das Gewicht der von 8 Kontrollpflanzen erhaltenen Samen betrug 32 g, während dasselbe der 1 Jahr infizierten 52 g, und das der Pflanzen der 2jährigen Kulturen 73 g ausmachte. Der Unterschied in der Ernte der Samen ist auf Abb. 5 wiedergegeben.

Was den Stickstoffgehalt in den Samen der Pflanzen anbelangt, so sind folgende Ergebnisse erhalten worden:

	% Stickstoff des Trockengewichts der Samen
Kontrolle	3,10
Infizierte Pflanzen	3,71

Der Eiweißgehalt der Kontrollsamen beträgt durchschnittlich 19,69%; der Eiweißgehalt der infizierten 23,19%. Somit verursachte die Infektion der Cicersaat mit Knöllchenbakterien eine üppigere und rasche Entwicklung und eine Steigerung des Stickstoff- und Eiweißgehaltes der Samen und eine beträchtliche Erhöhung der Gesamternte.

Abb. 5. Die Samen von 8 Pflanzen; links der nichtinfizierten, rechts der infizierten.

Schlußfolgerungen.

1. Die aus den Knöllchen des Cicer isolierte Reinkultur der Cicerknöllchenbakterien besitzen hinsichtlich des Cicers ein spezifisches Knöllchenbildungsvermögen, während andere Knöllchenbakterien (Wicke, Erbsen) keine Knöllchenbildung beim Cicer hervorrufen. Das Vorhandensein von verzweigten Formen konnten wir weder in den Kulturen, noch in den Knöllchen feststellen; in den letzteren nehmen die Knöllchenbakterien eigenartige Formen an.

2. Die Infizierung mit Cicerknöllchenbakterien verursacht eine Vergrößerung des Prozentgehaltes an Stickstoff in den Pflanzen und eine Erhöhung der Gesamternte.

Literatur.

1. Löhnis, Journ. Amer. Soc. Agron. Vol. 17. 1925. p. 445. — 2. Allison, F., Fixed nitrogen. (Amer. Chimic. Soc. monographserie. 1932.) — 3. Christensen, Zentralbl. f. Bact. II. Abt. Bd. 46. 1916. S. 17. — 4. Wright, Soil Sci. Vol. 20. 1925. p. 131. — 5. Whiting, Journ. Amer. Soc. Agr. Vol. 20. 1928. p. 131. — 6. Arny and Thather, Journ. Amer. Soc. Agr. Vol. 7. 1915. p. 172. — 7. Arny and Thather, Journ. Amer. Soc. Agr. Vol. 9. 1917. p. 127. — 8. Israilsky, Ber. d. Bakteriol. agronom. Station. Nr. 25. 1928. S. 70. — 9. Iwanow, N., Bull. of applied Bot. of genet. a. plant breeding. Vol. 20. 1929. — 10. Iwanow, N. N., Bull. of applied Bot. of genet. a. plant breeding. Ser. 3. Vol. 81. 1933. — 11. Iwanow, Sozialistische Pflanzenforsch. Bd. 10. 1934. — 12. Harrison und Barlow, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 19. 1909. S. 264. — 13. Popow, Bul. of appl. Bot. of gen. and plant breed. Vol. 20. 1928. p. 5. — 14. Simon, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 41. 1914. S. 470. — 15. Carroll, Soil. Sci. Vol. 37. 1934. p. 117.

Nachdruck verboten.

Ein Thermostat für Kühlung und Heizung.

[Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Karlsruhe.]

Von **G. Kaeß** und **W. Schwartz.**

Mit 4 Abbildungen im Text.

Während für die Einstellung von Temperaturen oberhalb der Temperatur des Arbeitsraumes die allgemein verwandten doppelwandigen Thermostaten mit elektrischer Heizung oder Gasheizung und entsprechenden Regulierungseinrichtungen gute Dienste leisten, stößt die Herstellung konstanter Temperaturen unterhalb der Raumtemperatur auf Schwierigkeiten.

Ein Notbehelf besteht darin, daß man den Thermostaten an die Wasserleitung anschließt und den Wasservorrat im Raum zwischen innerer und äußerer Wand dauernd erneuert. Auf diese Weise gelingt es, die Raumtemperatur um einige Grade zu unterschreiten. Der Erfolg ist jedoch besonders im Hochsommer gering und die Temperaturschwankungen im Thermostaten sind beträchtlich. Die Ein- und Ausschaltung des Wasserwechsels in Verbindung mit dem Thermoregulator ist besonders bei Dauerbetrieb zu wenig zuverlässig.

Der Erwerb eines besonderen Kühlschrankes für niedere Temperaturen ist wegen der erheblichen Anschaffungskosten meist nicht möglich. Außerdem ist in den Schränken, die für Haushalt und Gewerbe konstruiert worden sind, die Temperaturregelung für wissenschaftliche Zwecke zu ungenau.

Es besteht somit das Bedürfnis nach einem Thermostaten, mit dem man den gesamten Temperaturbereich von etwa -4^0 bis $+40^0$ C beherrschen kann. Die Anforderungen an die Genauigkeit der Versuchsbedingungen machen eine Regulierung der Temperatur im Innenraum des Thermostaten auf $\pm {}^1/_{10}{}^0$ C erforderlich. Verlangt wird ferner, daß die technische Einrichtung möglichst einfach ist, und die Betriebskosten sich in mäßigen Grenzen halten.

Zur Aufrechterhaltung einer konstanten Temperatur sind eine Wärme- und eine Kältequelle erforderlich. Als Wärmequelle kann eine elektrische Heizung, als Kältequelle der Verdampfer einer Kälteanlage verwendet werden. Als zusätzliche Wärme oder Kälte — je nach dem Verhältnis der eingeschalteten Temperatur zur Raumtemperatur — muß die mit der Umgebung ausgetauschte Wärme mit in Rechnung gestellt werden. In manchen Fällen darf auch die Reaktionswärme des Thermostateninhaltes nicht vernachlässigt werden.

Im Beharrungszustand, d. h. bei konstanter Temperatur, müssen zugeführte und abgeleitete Wärmemengen gleich sein. Eine möglichst weitgehende Annäherung an diesen Idealfall läßt sich durch automatische Schaltung der Wärme- und Kältequelle erreichen. Die Temperaturschwankungen werden um so geringer, je kürzer die Schaltperioden sind.

Für die Art der Schaltung ergeben sich die drei Möglichkeiten:

a) Dauerbetrieb der Wärmequelle, zeitweiser Betrieb der Kältequelle zur Beseitigung der überschüssigen Wärme.
b) Dauerbetrieb der Kältemaschine, zeitweiser Betrieb der Wärmequelle.
c) Kälte- und Wärmequelle werden abwechselnd aus- und eingeschaltet.

Da es schon mit Schaltungen nach a und b gelingt, die Temperatur weitgehend konstant zu halten, kann auf die Anwendung der komplizierten Schaltung c verzichtet werden.

Die handelsüblichen Kühlschränke[1]) sind meist mit Kompressoraggregaten (D. K. W., Teves, Linde, Wahl usw.), seltener mit Absorptionsmaschinen (Elektro-Lux, Siemens) ausgerüstet. Die Maschinen der ersten Gruppe arbeiten entweder mit Kompressoren mit hin- und hergehenden Kolben oder mit Rotationskompressoren. Anlagen mit Rotationskompressoren eignen sich besonders zur Herstellung tieferer Temperaturen[2]).

Für einen Betrieb mit häufigen Unterbrechungen der Kälteerzeugung (Methode a) eigenen sich am besten Kühlschränke mit Kompressoren. Schränke mit Absorptionsanlagen arbeiten beim Einschalten zunächst langsam, bis der Kocher genügend angeheizt ist, so daß man in diesem Fall am besten nach Methode b verfährt.

Da der Thermostat auch für Erzielung hoher Temperaturen (40—50° C) geeignet sein soll, kommen für den Betrieb der Kältemaschine in erster Linie solche Kältemittel in Frage, deren Dampfspannungskurve möglichst niedrig liegt[3]).

Wird der Thermostat bei Temperaturen betrieben, die stark von der Zimmertemperatur abweichen, so werden beträchtliche Wärmemengen durch Leitung und Strahlung aus der Umgebung vom Thermostaten aufgenommen bzw. von ihm abgegeben. Diese Wärmemengen kann man vorteilhaft gleich als Kälte- oder Wärmequelle verwenden und dabei wesentliche Ersparnisse an Strom machen. Um den Betrieb wirtschaftlich zu gestalten, wird man drei Arten der Betriebsführung auseinanderhalten:

1. Aufrechterhaltung von Temperaturen, die wesentlich unter Raumtemperatur liegen.
2. Aufrechterhaltung von Temperaturen von etwa Raumtemperatur.
3. Aufrechterhaltung von Temperaturen, die wesentlich über der Raumtemperatur liegen.

Im Bereich 1. ist die von der Umgebung an den Thermostaten übergehende Wärme so groß, daß sie als Wärmequelle ausreicht. In diesem Fall wird die Kältemaschine gesteuert, die Heizung bleibt ausgeschaltet. Abschnitt 2. läßt sich nach unseren Versuchen als Temperaturbereich begrenzen, der zwischen den Temperaturen $t_a + 10^0$ und $t_a - 10^0$ C liegt, wobei ta die Raumtemperatur ist. In diesem Falle ist die in den Schrank eingebaute Wärmequelle (elektrische Heizung) in dauerndem Betrieb und die Kältemaschine wird wie bei 1. zur Beseitigung der überschüssigen Wärme gesteuert. Bei der Festsetzung der für den Schrank zulässigen oberen Temperaturgrenze ist zu beachten, daß die Verdampfertemperatur der Kondensatortemperatur nicht zu nahe kommt. Liegt die eingestellte Temperatur im Bereich 3., so bleibt die Kältemaschine ausgeschaltet und die Heizung wird gesteuert.

[1]) Vgl. Sonderheft der Ztschr. Kälte-Industrie: Pohlmann, Kleinkältemaschinen für Gewerbe und Haus (1933).

[2]) Vgl. Plank und Kaeß, Ztschr. f. d. ges. Kälte-Industrie. Jahrg. 39. 3. Heft. 1932.

[3]) Z. B. SO_2, auch CH_3Cl, wenig geeignet ist NH_3.

Es ergeben sich also folgende Arten der Betriebsführung:

(1) Schranktemperatur mehr als 10° unter Raumtemperatur:	(2) Schranktemperatur nicht mehr als 10° C unter oder über Raumtemperatur:	(3) Schranktemperatur mehr als 10° C über Raumtemperatur:
Heizung ausgeschaltet, Kältemaschine gesteuert.	Heizung dauernd schwach eingeschaltet, Kältemaschine gesteuert.	Heizung gesteuert, Kältemaschine ausgeschaltet.

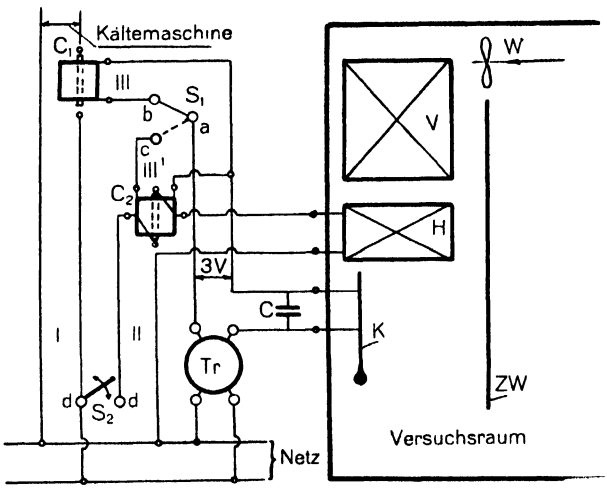


Abb. 1. Schaltung bei Verwendung von Wechselstrom.

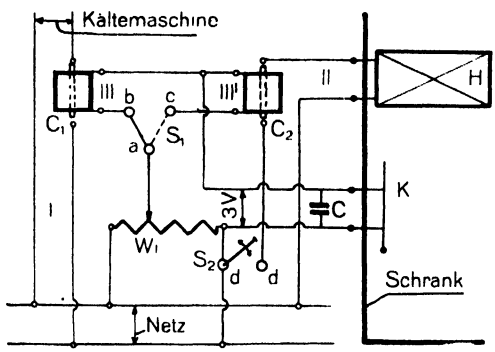


Abb. 2.
Schaltung bei Verwendung von Gleichstrom.

In Abb. 1 sind Schaltbild und Einrichtung eines Thermostaten für Wechselstrombetrieb angegeben. Die Steuerung der Kältemaschine und der Heizung H erfolgt durch die Cutax-Relais C_1 und C_2, die sich bei monatelangem Dauerbetrieb bewährt haben. Das Relais besteht aus einer Schaltröhre, in der der Stromkreis unterbrochen werden kann, und aus einer die Unterbrechung auslösenden Magnetspule. Die Steuerung erfolgt durch das Kontaktthermometer K. Da dieses nur eine geringe Belastung verträgt, muß die Netzspannung durch einen Transformator T_r auf 3—5 Volt reduziert werden. Zur Unterdrückung von Funken an der Kontaktstelle dient der Kondensator C von etwa 4 MF. Im Bereich 1. wird durch den Schalter S_1 die Verbindung a—b hergestellt. Wird im Kreis III durch K der Stromkreis geschlossen, so wird auch im Kreis I, in dem Relais C_1 eine leitende Verbindung hergestellt. Damit beginnt die Kühlperiode, die mit der Wiederherstellung der eingestellten Temperatur endet. Im Bereich 2. wird außerdem der Schalter S_2 in die Lage d—d gebracht. Im Bereich 3. wird durch Schalter S_1 in der Lage a—c die Kältemaschine ausgeschaltet; S_2 bleibt unverändert. Wird hier der Kreis III geschlossen, so muß Relais C_2 den Strom in Kreis II unterbrechen (Ruhestrom-Relais!).

Erfolgt der Betrieb mit Gleichstrom (Abb. 2), so wird die niedere Spannung der Kreise III und III' mit Hilfe des Widerstandes W_1 erzeugt.

Wir sind bei unseren Versuchen von einem Haushaltkühlschrank der Firma Teves in Frankfurt a. M. ausgegangen (Abb. 3). Der Schrank enthält in seinem unteren Teil die Kältemaschine. Der obere Teil besteht aus dem gut isolierten Versuchsraum, in dem sich der Kühlkörper und eine Vorrichtung zur Steuerung der Temperatur befinden. Der Temperaturregler ist für exakte Versuchsbedingungen zu ungenau und wird daher durch ein Kontaktthermometer mit $^1/_{10}{}^0$ Teilung ersetzt (K, Abb. 1 und 2).

Es hat sich gezeigt, daß die Temperaturverteilung im Versuchsraum sehr ungleichmäßig ist. Wird die Luftzirkulation durch Einbau einer Zwischenwand (ZW) verbessert, so lassen sich diese Unregelmäßigkeiten weitgehend vermindern, jedoch erst bei Verwendung eines Ventilators (W) bleibt die Temperatur an verschiedenen Stellen des Schrankinneren auf $\pm\,^1/_{10}{}^0$ C genau konstant. Eine Schaltperiode dauerte etwa 5 Minuten. Für den Betrieb in den Bereichen 2. und 3. dient die Heizung H. Es ist ratsam, die einzelnen Fächer des Schrankes durch Klappen abzuschließen (vgl. Abb. 3). Durch diese Maßnahme können die Kälte- bzw. Wärmeverluste beim Öffnen der Schranktür herabgesetzt werden.

Abb. 3. Zu Versuchszwecken umgebauter Haushaltkühlschrank der Firma Teves.

Ist der Thermostat in Betrieb, so ergibt sich im Beharrungszustand während einer Schaltperiode ein Temperaturverlauf t, wie ihn Abb. 4 zeigt. t_1 ist die am Kontaktthermometer eingestellte Temperatur. Die Schnittpunkte der Kurve mit t_1 = konstant geben an, nach welchen Zeiten ($Z_{1\div3}$, $Z_{3\div5}$) die Kälte- bzw. Wärmequelle geschaltet wird. Die maximalen Temperaturänderungen $\triangle t_1$ und $\triangle t_2$ sollen möglichst klein bleiben. Stellen wir für die Teile 1—2 und 3—4 die Wärmebilanzen auf, so erhalten wir:

$$\text{I.}\quad (Q_S + Q_H)\cdot Z_{1\div2} = (G_L\cdot c_{pL} + \Sigma G_i c_i)\triangle t_1 + k\,F\,(t_{im} - t_{vm})\cdot Z_{1\div2}.$$

$$\text{II.}\quad (Q_S + Q_H)\cdot Z_{3\div4} = -(c_{pL}\cdot C_L + \Sigma G_i c_i)\triangle t_2 + k\,F\,(t'_{im} - t'_{vm})\cdot Z_{3\div4}.$$

Es sind:

Q_S (kcal/h) durch Leitung und Strahlung ausgetauschte Wärme.

Q_H (kcal/h) von der Heizung und anderen im Thermostaten befindlichen Wärmequellen erzeugte Wärme (z. B. Ventilator, Beleuchtung).

$Z_{1\div2}$ und $Z_{3\div4}$ (Std.) die zwischen den Abschnitten 1 und 2 bzw. 3 und 4 verflossene Zeit.

G_L (kg) Gewicht der Luft im Thermostaten.

c_{pL} (kcal/kg, °C) spezifische Wärme der Luft im Thermostaten bei konstantem Druck.

G_i (kg) Gewicht der im Thermostaten enthaltenen Gegenstände usw.

c_i (kal/kg, °C) spezifische Wärme der im Thermostaten enthaltenen Gegenstände usw.

F (kcal/m², h, °C) Wärmeübergangszahl für den Wärmeübergang von der Kältequelle an die Luft.

k (m²) Oberfläche der Kältequelle.

t_{im} und t'_{im} (°C) mittlere Thermostatentemperatur in den Teilen 1, 2 und 3, 4.

t_{vm} und t'_{vm} (°C) Temperatur (mittlere) des verdampfenden Kältemittels in den Teilen 1, 2 und 3, 4. Der Einfachheit halber wird angenommen, daß der Inhalt des Thermostaten die gesamten Schwankungen ($\triangle$ t) mitmacht, obwohl dies praktisch nicht ganz zutrifft.

Wenn z_1 und z_2 verschieden sind, so gehört zu dem größeren z das größere $\triangle$ t, das die vorgeschriebene Grenze (hier $^1/_{10}{}^0$ C) nicht überschreiten darf. $\triangle$ t bleibt um so kleiner, je weniger der Wärmeinhalt der Luft erhöht oder gesenkt wird. Ist der Schrank gefüllt, so sind die Schwankungen bei gleichem Wärmeübergang etwas kleiner, da ein Teil der Wärme der Temperaturänderung des Beschickungsgutes dient.

Nimmt man die Wärmequelle als konstant an [Bereich (1) und (2)], so bleibt $\triangle$ t um so kleiner, je mehr der Wert des zweiten Gliedes der rechten Seite der Gleichungen sich dem Wert der linken Seite nähert. Die Wärmemenge, die in der Kältequelle verschwindet, soll also im Vergleich zu der Wärme, die an die Luft und den Schrankinhalt abgegeben wird, möglichst groß sein. Beim Entwurf eines Thermostaten wird man die Oberfläche des Verdampfers entsprechend groß wählen und den Wärmeübergang günstig gestalten, damit die Wärme $Q_S + Q_H$ rasch abgeführt werden kann[1]).

Es genügt, jeweils den Wärmeübergang der gesteuerten Quelle besonders günstig zu gestalten. Auch beim Wärmeaustausch der Heizung [Bereich (3)] bestehen in dieser Richtung keine Schwierigkeiten. Für den Bereich (3) wird das zweite Glied der rechten Seite der Gleichung Null, Q_S wird negativ und für Q_H läßt sich eine Gleichung aufstellen entsprechend derjenigen für den Wärmeübergang am Kühlkörper.

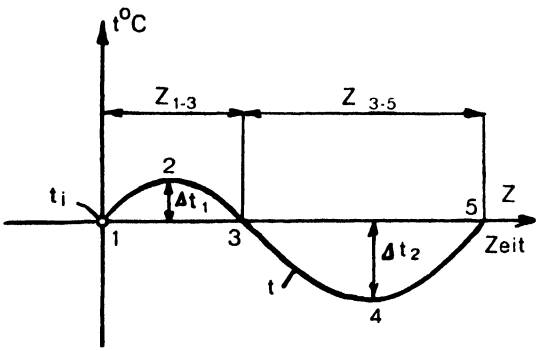


Abb. 4. Temperaturverlauf im Schrank während einer Schaltperiode.

Wird ein gewöhnlicher Kühlschrank umgebaut, so liegen Maschinengröße und Verdampferoberfläche bereits fest. Die einzige Möglichkeit, kleine Temperaturschwankungen und kurze Schaltperioden zu erzielen, besteht also in einer Vergrößerung von k, die an unserem Ate-Schrank durch den Einbau der Zwischenwand und durch starke Luftbewegung erreicht worden ist. Die Verhältnisse des Wärmeüberganges am Kühlkörper sind zahlenmäßig nicht genau bekannt, daher kann man die Temperaturbereiche von 1., 2. und 3. nicht genau berechnen, sondern muß sie durch Versuche ermitteln. Bei unseren Versuchsbedingungen war auch bei einer Temperatur des Versuchsraumes von t_a — 10° C die Wärmezufuhr durch Einstrahlung ausreichend, um stärkere Streuungen um die eingestellte Temperatur zu verhindern.

Bei der Neukonstruktion eines derartigen Schrankes darf die Isolierung nicht zu stark gemacht werden, damit im Bereich 2. die obere Grenztemperatur (hier t_a + 10°) nicht zu hoch wird. Für die zu fordernde Leistung der Kältemaschine ist die eingestrahlte und die im Schrankraum anfallende Wärmemenge maßgebend.

Die zusätzliche elektrische Heizung, die für 2. und 3. erforderlich ist, müßte proportional der Temperaturzunahme über t_a — 10° C verstärkt werden. Ist die Temperatur im Thermostaten gleich der Raumtemperatur, so hat die Heizung so viel Wärme zu entwickeln, als bei der Temperaturdifferenz $t_a - t_i = 10$ eingestrahlt wird. Steigt die Innentemperatur über die Raumtemperatur, so muß die Heizung außerdem die ausgestrahlte Wärme aufbringen.

---

[1]) Voraussetzung für die Einhaltung der geforderten Betriebsbedingungen ist natürlich die Verwendung eines empfindlichen Kontaktthermometers, das auf geringste Temperaturänderungen sofort anspricht.

Es genügt, für den gesamten Bereich 2. und 3. eine Heizung zu verwenden, die ein- oder zweimal unterteilt werden kann.

Wir haben von der ganzen Heizung einen Teil $H_{(2)}$ abgetrennt, der im Bereich 2. eingeschaltet wird, im Bereich 3. arbeitet die gesamte Heizung (III) $H_{ges.} = H_{(2)} + H_{(3)}$.

Die Größe der Heizung ergibt sich aus den Beziehungen:

$$\text{(IV)}\quad H_{(2)} \cdot \frac{860}{1000} = k \cdot F \triangle t_{(2)}.$$

$$\text{(V)}\quad H_{(3)} \cdot \frac{860}{1000} = k\,F \triangle t_{(3)}.$$

Es sind:

$H_{(2)}$ und $H_{(3)}$ die Heizleistungen in Watt und 860 der Wärmewert der KWh.
k = Wärmeübergangszahl zwischen Thermostatenwand und Raumluft in $^{kcal}/_{h, m^2, ^0C}$.
F = Mittlere Fläche in m^2 der Wände des Thermostaten.
$\triangle t_{(2)}$ und $\triangle t_{(3)}$ (^{0} C) Temperaturintervalle, in denen die Bereiche (2) und (3) betrieben werden.

An Stelle von k kann man mit ausreichender Genauigkeit (VI) $k = \frac{\lambda}{d}$ setzen, wobei λ die Temperaturleitzahl der Isolierschicht in $^{kcal}/_{m, ^0C, h}$ und d deren Dicke in m ist. Damit lassen sich $H_{(2)}$ und $H_{(ges.)}$ bestimmen.

Sind im Schrank noch andere Wärmequellen vorhanden, so können die Temperaturgrenzen im Bereich (2) heraufgesetzt werden.

Die Länge l (m) des Heizdrahtes ergibt sich aus den Gleichungen

$$\text{(VII)}\quad H_x = \frac{e^2}{W_x} \text{ und (VIII) } W_x = \frac{l_x \cdot s}{q}$$

H ist die Heizleistung in Watt, e die Spannung in Volt, W der Widerstand des Heizdrahtes in Ohm, s der spezifische Widerstand des Drahtes in Ohm · $mm^2 \cdot m^{-1}$ und q sein Querschnitt in mm^2. Der Index x zeigt an, für welchen Bereich die Heizung bestimmt werden soll. Aus (VII) und (VIII) wird die Länge l berechnet:

$$\text{(IX)}\quad l_x = \frac{e^2 \cdot q}{H_x \cdot s}.$$

Damit in der Umgebung der Heizung eine Störung des Temperaturfeldes durch Strahlung möglichst vermieden wird, wählt man den Querschnitt des Drahtes etwas reichlich.

Beispiel für die Berechnung der Heizung.

Für die Isolierung von Kühlschränken wird meist Korkmaterial verwendet, wofür man $\lambda = 0{,}04$ ($^{kcal}/_{m, h, ^0C}$) setzen kann. Ist die mittlere Fläche der Schrankwand $F = 2\ m^2$ und die Korkdicke $d = 0{,}04$ m, so ergibt sich im Bereich 2. für $\triangle t_{(2)} = 20^0$ C eine Heizleitung:

$$H_{(2)} = \frac{0{,}04}{0{,}04} \cdot 2 \cdot 20 \cdot \frac{1000}{860} \approx 47 \text{ Watt}.$$

$H_{(3)}$ gilt von $t_a + 10^0$ bis $t_a + 40^0$. Also wird $\triangle t_{(3)} = 30^0$.

$$H_{(3)} = \frac{0{,}04}{0{,}04} \cdot 2 \cdot 30 \cdot \frac{1000}{860} \approx 70 \text{ Watt}.$$

$H_{ges.} \approx 117$ Watt. Bei 120 Volt Spannung und bei Verwendung eines Konstantendrahtes vom spez. Widerstand $s = 0{,}50\ \Omega\ mm^2\ m^{-1}$ und dem Durchmesser von 0,2 mm ergibt sich:

$$l_{(2)} = \frac{e^2 \cdot q}{H_{(2)} \cdot s} = \frac{120^2 \cdot 0{,}2^2\ \pi}{47 \cdot 0{,}50 \cdot 4} \approx 19{,}3\ m$$

und analog

$$l_{(3)} = \frac{e^2 \cdot q}{H_{ges} \cdot s} = \frac{120^2 \cdot 0{,}2^2\ \pi}{117 \cdot 0{,}50 \cdot 4} \approx 7{,}8\ m.$$

Ist der Thermostat im Bereich 3. in Betrieb gewesen und will man in einen anderen Bereich übergehen, so ist beim Anlassen der Kältemaschinen Vorsicht geboten, da sich im Zylinder flüssiges Kältemittel bilden kann. Um Flüssigkeitsschläge zu vermeiden, dreht man das Schwungrad der Maschine vor dem Anlassen einige Male mit der Hand, bis die Flüssigkeit auf die Druckseite gelangt ist.

Zusammenfassung.

1. Es wird die Einrichtung eines Thermostaten beschrieben, mit dem man den für mikrobiologische Untersuchungen hauptsächlich in Frage kommenden Temperaturbereich von etwa — 4° bis etwa + 40° C mit einer Genauigkeit von etwa ± 0,1° C beherrschen kann.

2. Die Temperatur wird dadurch konstant gehalten, daß eine Wärme- und eine Kältequelle gegeneinander wirken, von denen die eine dauernd in Betrieb ist und die andere durch ein Kontaktthermometer über ein Relais gesteuert wird.

3. Aus Gründen der Wirtschaftlichkeit wird der genannte Temperaturbereich in 3 Abschnitte mit verschiedener Betriebsweise zerlegt.

4. Für den Bau des Thermostaten bzw. für den Umbau von handelsüblichen Haushaltungskühlschränken werden die Berechnungsgrundlagen angegeben.

Referate.

Allgemeines und Methodisches.

Himmelweit, F., Ein neuer Mikromanipulator. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 12. 1933. S. 1909—1910.)

Der Ultropak-Mikromanipulator (Hersteller: F. Leitz, Wetzlar) stellt etwas grundsätzlich Neues dar. Durch Einführung der Apparatur in den Kondensorflausch des Mikroskopes (es ist jedes größere Leitz-Mikroskop geeignet) entsteht ein einheitliches Instrumentarium, bei dem Nachteile in Fortfall kommen, die sich durch den getrennten Aufbau von Manipulator und Mikroskop bei anderen Einrichtungen ergeben. Die Leistungsfähigkeit des Manipulators soll derjenigen anderer Apparate gleichkommen, ist aber bezüglich Feinheit und Exaktheit der Bewegungen mit dem Mikromanipulator nach Chambers nicht vergleichbar. Konstruktion und Gebrauch des Ultropak sind aus dem Original zu ersehen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Pels Leusden, F., Rücklaufsicheres, gefahrloses Pipettieren. Neue Apparatur. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 81. 1934. S. 100.)

Die Apparatur (Hersteller: Leitz, Berlin, Luisenstr. 45, Preis 6 RM.) stellt eine wesentliche Verbesserung der 1931 beschriebenen Vorrichtung dar, da sie nur noch aus 4, gegen damals 10, Einzelteilen besteht. Es können damit Flüssigkeitsmengen bis herunter auf 0,01 ccm genau pipettiert werden, und zwar mit einer Hand. Der Sauger paßt auf jede Pipette, da sein Pipettenmundstück konisch erweitert ist. Rodenkirchen (Duisburg).

Kruse, W. und **Fischer, M.,** Das neue System der silbernen Antisepsis und Chlordesinfektion. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 82. 1933. S. 49—51.)

Auf der Entdeckung Fischers fußend, daß die an sich sehr unzuverlässige Oligodynamie der Edelmetalle mit größter Sicherheit und Schnelligkeit durch Einwirkung des elektrischen Stromes auf das Metall erzeugt werden kann, haben Verff. einen sog. „Aktivator" konstruiert. Damit erzeugtes aktives Silber besitzt außerordentlich starke antiseptische Kraft. Der Chloraktivator aber, der im Wasser die Ionisierung des Chlors bewirkt, sterilisiert jedes Wasser in kürzester Zeit und ist auch zur Händedesinfektion geeignet. Rodenkirchen (Duisburg).

Dimitrijević-Speth, V. und **Haupt, H.,** Agarmembranfiltration von Bakterien und Anwendungsmöglichkeiten zur Anreicherung und Trennung von Bakterienarten, unter besonderer Berücksichtigung der Stuhlkultur. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 131. 1934. S. 115—127.)

Es wird eine in Wesen und Technik der Ultrafiltration nahestehende, jedoch mit einfachen Mitteln leicht ausführbare Filtrationsmethode für Bakterienkulturen und Bakteriengemische beschrieben, deren Anwendungsgebiet hauptsächlich die Koprokultur zu werden verspricht. Zur Ausführung der Filtration werden fingerhutförmige Käppchen aus Filtrierpapier mit heißem Agar von bestimmter Verdünnung getränkt, 15 Min. im Eisschrank gehalten und frisch verwendet. Diese einfachen Agarmembranfilterchen

filtrieren in Minuten ohne künstlichen Druck, indem sie direkt auf die Nährböden gestellt werden. Während nun die einen Bakterienarten selbst niedere Agarkonzentrationen nicht durchdringen, gehen andere in kleinerer oder größerer Zahl auch durch eine höhere Agarkonzentration der Filtermembran durch. Es ist auffallend, daß die grampositiven Bakterienarten fast ohne Ausnahme schlecht durchgehen. Das beste Durchdringungsvermögen besitzen die pathogenen Darmbakterien. Größe und Beweglichkeit spielen dabei keine beträchtliche Rolle (Ruhr). — Dem Wesen nach ist die Agarmembranfiltration eine aufgelockerte Ultrafiltration, wobei die Porengröße etwa an die Filtrationsgrenze grobkolloidaldisperser und grobdisperser Teilchen verschoben ist. Rodenkirchen (Duisburg).

Dimitrijević-Speth, V., Der Einfluß von Salzen und Nährzusätzen auf die Festigkeit von Agarnährböden. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 131. 1934. S. 247—254.)

Mittels der schon an anderer Stelle (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 129. 1933. S. 149) beschriebenen Methode zur Messung der Festigkeit von Agargallerten wurde die Beeinflussung der Agarfestigkeit durch verschiedene Nährbodenbestandteile untersucht. Daraus ergeben sich für die Herstellung eines möglichst festen Agars folgende Richtlinien: I. Die zur Lösung und Sterilisierung vorgesehene Kochzeit ist so weit wie möglich zu beschränken, und nach den Ergebnissen Bickerts ist kurzes Kochen bei höherer Temperatur im Autoclav vorzuziehen. II. Die Reaktion ist während der ganzen Bereitungs- und Sterilisierungszeit in der Nähe des Neutralpunktes zu halten; denn stärker saure oder alkalische Reaktion schwächt die Agarfestigkeit steigend mit Konzentration der Säure bzw. Lauge und Kochzeit unter chemischer Zersetzung. III. Der Kochsalzzusatz soll so spät wie möglich geschehen, frühestens kurz vor der Abfüllung, noch besser mittels steriler konzentrierter Kochsalzlösung erst kurz vor dem Plattengießen. Neutralsalze ergeben nämlich sofort nach Zusatz eine Festigkeitszunahme, die aber beim Kochen mit der Zeit teilweise oder ganz verloren geht, am schnellsten beim Kochsalz. IV. Während gewöhnliches Fleischwasser einflußlos ist, können manche Peptonsorten (französische) und Verdauungsbrühen (z. B. die nach Hottinger) eine Schwächung der Agarfestigkeit verursachen. V. Zusatz von kolloidalen Stoffen (Serum, Gelatine usw.) setzt die Festigkeit des Agars manchmal ganz erheblich herab, und zwar mit verlängerter Kochzeit immer mehr. Dies ist auch beim vielgebrauchten Lackmus der Fall, dessen Kochzeit ja schon aus anderen Gründen so kurz wie möglich gehalten wird. Rodenkirchen (Duisburg).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Jordan, E. O., Caldwell, M. E., and Reiter, D., Bacterial motility. (Journ. of Bacter. Vol. 27. 1934. p. 165—174.)

Zu den Untersuchungen wurden 41 Stämme von Salmonella Schottmülleri, die sämtlich dem S-Typ angehörten, verwendet. Zur Prüfung der Beweglichkeit wurde neben der Beobachtung im hängenden Tropfen die Züchtung auf halbfesten Nährböden (0,3% Agar + 4% Gelatine bei Züchtung bei 22°, 0,5% Agar + 8% Gelatine bei Züchtung bei 37°) herangezogen. Die Ergebnisse wurden durch Geißelfärbungen ergänzt, die nach der Methode von Safford und Fleisher durchgeführt wurden.

Die Beobachtungen erlaubten die Aufstellung von 4 Gruppen: 1. Beweglich bei 22 und 37°, 2. unbeweglich (4 Stämme), 3. überwiegend unbeweglich, vereinzelt beweglich, 4. überwiegend beweglich bei 22°, überwiegend unbeweglich bei 37°. Die Stämme erwiesen sich i. a. in ihrer Zusammensetzung bezüglich der Beweglichkeit als sehr konstant. In einzelnen Fällen zeigte sich eine Abhängigkeit von den Kulturbedingungen. Verff. vertreten auf Grund ihrer Versuchsergebnisse den Standpunkt, daß die Beweglichkeit nicht als wichtiges Merkmal bei der systematischen Einordnung der Bakterien angesehen werden darf. Richter (Kiel).

Sulmann, F., Variationen bei Bakterien. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie. Bd. 81. 1933. S. 32—45.)

Bei der Untersuchung der Aufspaltung von Cholerakulturen wurde vergleichsweise die Variationsmöglichkeit des Prodigiosuspigmentes geprüft, und es wurde festgestellt, daß es durch Zusatz von Saccharose, Maltose oder Laktose zum Nähragar leicht gelingt, einen hartnäckig weiß wachsenden Prodigiosusstamm in die rot wachsende Form zurückzuwandeln.

Rodenkirchen (Duisburg).

Kritschewski, I. L. und **Heronimus, E. S.,** Über den Pleomorphismus der Bakterien. II. Über die Identität von Pneumo- und Streptokokken. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 131. 1934. S. 84—89.)

Verff. stellten bei Infektion von Mäusen mit Pneumokokken in einer erheblichen Anzahl von Fällen den Übergang des Pneumokokkus in den Streptokokkus (vorwiegend Str. hämolyticus, selten Str. viridans) fest. Sie halten deshalb die Pneumokokken und Streptokokken nur für zwei verschiedene Existenzphasen ein und derselben Mikrobenart.

Rodenkirchen (Duisburg).

Koch, F. E., Die polysaccharidbildenden Speichelstreptokokken und die Froschlaichstreptokokken der Zuckerfabriken. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 130. 1933. S. 381—390.)

Eingehende Untersuchungen von Streptokokken, die auf Saccharoseagar dicke Schleimmassen bilden. Insbesondere wurde geprüft, ob diese bei allen Menschen im Speichel vorkommenden Streptokokken (polysaccharidbildende Streptokokken nach Oerskov) mit den seit langem bekannten Erzeugern des „Froschlaichs" in Zuckerfabriken (Strept. mesenterioides) verwandt oder identisch sind. Ihr Unterschied besteht darin, daß der Strept. mesenterioides im Gegensatz zu den Speichelstreptokokken Kapseln besitzt, bei diesen der Schleim also extrazellulärer Natur ist. Unter besonderen Kulturbedingungen (Züchtung in autoklavisierten Säften aus der Zuckerfabrik) aber gelang es Verf., die Speichelstreptokokken in kapselbildende Formen umzuwandeln. Umgekehrt führte fortgesetzte Züchtung des Strept. mesenterioides auf saccharosehaltigen Nährböden zum Verlust des Kapselbildungsvermögens. Im übrigen konnte die kapsellose Form des Strept. mesenterioides nahezu in allen Säften der Zuckerfabriken nachgewiesen werden. Welches die besonderen Bedingungen sind, die zur Froschlaichbildung führen, ist noch unbekannt. Diese Ergebnisse lassen es möglich erscheinen, daß die schleimbildenden Speichelstreptokokken mit dem Strept. mesenterioides identisch sind.

Rodenkirchen (Duisburg).

Birsch-Hirschfeld, L., Über die Wirksamkeit der Extrakte von auf Zellophanagar gezüchteten Staphylokokken. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie. Bd. 81. 1933. S. 260—285.)

Die Bakterienkultur auf zellophanbedecktem Agar (nach Jakobsthal) erscheint gut geeignet zur näheren Charakterisierung der verschiedenen Staphylokokkentypen, vor allem aber zum Nachweis ihrer latenten Eigenschaften. So wurde ein auf üblicher Blutplatte anhämolytischer Stamm auf der Zellophankultur mit viel Blut zu erheblicher Hämolysinbildung angeregt, ein anderer, schwach hämolytischer Stamm zeigte hier sogar Toxinbildung. — Glukosezusatz hemmte die Hämolysinbildung.

Rodenkirchen (Duisburg).

Hallauer, C., Die übertragbare Lyse als Funktion des bakteriellen Gasstoffwechsels. II. Mitt.: Beeinflußt das übertragbare Lysin den bakteriellen Gasstoffwechsel? (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 130. 1933. S. 194—206.)

Der Vorgang der Lysinbildung kommt im bakteriellen Gasstoffwechsel nicht unmittelbar zum Ausdruck. Er führt zu keiner Atmungssteigerung der Bakterien; hohe Lysinkonzentrationen dagegen bewirken durch Zellschädigung einen Atmungsabfall. Wie durch Versuche, in denen die Keimatmung von der Keimvermehrung künstlich (Blausäure, Narkotika) dissoziiert wurde, gezeigt werden konnte, ist die Lysinneubildung in jedem Falle nur mit der Keimvermehrung bzw. den mit ihr verbundenen Stoffwechselvorgängen unlösbar verknüpft.

III. Mitt.: Lysinbildung durch Oxydation chemisch definierter Stoffe. (Ebenda. S. 206—213.)

Die Lysinzunahme ist an die Verwertung ganz bestimmter C-Quellen (Glukose, Lävulose, Maltose, Mannit) gebunden. Lysinneubildung ist aber nur durch Verbrennung, nicht durch glykolytische Spaltung (unter Anaerobiose) solcher C-Quellen erzielbar. Rodenkirchen (Duisburg).

Skinner, C. E., and Brown, J. W., The failure of Bacterium coli from human feces to grow at 46° in the Eijkman or the Bulir tests. (Journ. of Bact. Vol. 27. 1934. p. 191—200.)

Die Versuche ergaben, daß sowohl bei der Eijkman- als auch bei der Bulir-Probe nur ein Teil der in menschlichen Fäzes vorhandenen Bact. coli nachgewiesen werden können. Die Ergebnisse werden besser, wenn die Proben nicht sofort auf 46° gebracht werden, sondern wenn der Temperaturanstieg allmählich im Laufe von 5 Std. erfolgt. Nach Ansicht der Verff. findet unter diesen Umständen eine Gewöhnung einzelner Bakterien an die erhöhte Temperatur statt, die ihnen ein Wachstum ermöglicht. Die Bulir-Probe ist der Eijkman-Probe in geringem Maße überlegen, bei beiden Proben dürfen die Ergebnisse erst nach 48 stündiger Bebrütung abgelesen werden. Richter (Kiel).

Knaysi, G., and Dutky, S. R., The growth of Bacillus megatherium in relation to the oxydation-reduction potential and the oxygen content of the medium. (Journ. of Bacteriology. Vol. 27. 1934. p. 109—120.)

Durch die Untersuchungen sollte die Frage geklärt werden, ob das Redoxpotential der Nährlösung als wachstumsbegrenzender Faktor bei aeroben Sporenbildnern eine Rolle spielt. Hierbei war es notwendig, das normale Redoxpotential der verwendeten Nährlösungen unter normalem Druck und unter einem Vakuum, das kein Wachstum mehr erlaubte, zu bestimmen. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen wurde dann durch Zusatz von nicht schädigenden Substanzen versucht, eine so große Verschiebung des Redoxpotentials zu erzielen, daß aus dem Verhalten des Organismus Schlüsse auf die Bedeutung des Redoxpotentials möglich waren. Das Redoxpotential wurde in bekannter Weise mit Hilfe einer Pt-Elektrode bestimmt, bei Messungen im Vakuum wurde die gesamte Zelle in den Exsikkator gebracht. Das Anfangspotential normaler Nährböden entsprach dem Potential der Kalomelelektrode, bei Messungen unter Vakuum wurde als unterer Grenzdruck für das Wachstum ein Druck von 10 mm Hg und ein Potential von — 0,160 Volt festgestellt. Durch Zusatz von Na-Sulfit war es möglich, auch unter normalem Druck das Redoxpotential bis auf — 0,160 Volt zu senken, hierbei trat kein Wachstum mehr ein, doch ergab die gleichzeitige Untersuchung, daß in diesem Fall der Nährboden sauerstofffrei war. Durch Zusatz von Ferriammoniumzitrat konnte selbst unter hohem Vakuum ein Potential von — 0,040 Volt erhalten werden, trotzdem war hier kein Wachstum zu beobachten. Diese Ergebnisse zusammen mit den gleichzeitig durchgeführten Sauerstoffbedingungen zeigen, daß als begrenzender Faktor der Sauerstoffgehalt und nicht das Redoxpotential anzusehen ist. Richter (Kiel).

Link, G. K. K., and Wilcox, H. W., Precipitin-ring test applied to fungi. II. (Bot. Gaz. Vol. 95. 1933. Heft 1.)

Die Pilzanreibungen (Eiweißauszüge) wurden mit 0,85 proz. Natriumchlorid-Lösung hergestellt. Der höchste hierbei erzielte Titer betrug: 1: 25 600. Diese Lösungen sind artspezifisch und gaben in den meisten Fällen eine brauchbare Präzipitinreaktion. Reziproke Reaktionen konnten nur in beschränktem Maße erreicht werden.

Sclerotinia-Arten der Pezizales zeigten serologische Unterschiede mit den Hypocreales, z. B. Neurospora tetrasperma, Fusarienarten und einigen Arten von Cylindrocarpon und Ramularia. Gruppenreaktionen ließen sich innerhalb der Fusarien erzielen. Ferner gelang mit Hilfe der Präzipitationsmethode die Trennung von Sclerotinia sclerotiorum und S. fructicola, sowie die serologische Differenzierung von Plus- und Minusstämmen der Neurospora tetrasperma. Bei Fusarien untereinander und auch bei den Konidienstadien verschiedener Ascomyceten, z. B. bei Gibberella, versagt die Präzipitationsmethode.

Obgleich jeder artverschiedene Organismus ein artspezifisches Eiweiß besitzt, läßt sich die Präzipitationsmethode bei Pilzen nur bedingt mit Erfolg anwenden. Literatur und Methodik sind ausführlich beschrieben.
Bärner (Berlin).

Tausson, W. O. und Tausson, T. A., Energieverwandlung durch Mikroorganismen. II. Energieverhältnisse bei Paraffin- und Wachs-Oxydierung durch Schimmelpilze. (Microbiology. Vol. 2. 1933. S. 221—236.) [Russisch.]

Es sollte der Energieverlust bei Paraffin- und Wachsoxydierung im

Vergleich zur Glukoseoxydierung bestimmt, ferner die Abhängigkeit der Verlustwerte von äußeren Bedingungen festgestellt werden. Es wurden Mineralnährböden, die in bezug auf Art der Stickstoffverbindung, Reaktion (pH) und osmotischen Druck verschieden waren, bereitet. Diesen Nährböden wurde als einzige Kohlenstoffquelle hinzugefügt: 1. Paraffin, 2. Wachs, 3. Traubenzucker. Auf diesen Nährböden wurden verschiedene Schimmelpilze bei 24—25° C im Verlauf von 20—50 Tagen kultiviert (Aspergillus flavus, Asp. sp. A. Penicillium sp. D.). Es wurde darauf nach Gewicht oder chemisch die Menge des nicht verbrauchten Stoffes bestimmt und kalorimetrisch, durch Verbrennen, seine Energiemenge und die Energiemenge des Myzels der Kultur festgestellt. Da die Menge des dem Nährboden hinzugefügten Stoffes und dessen Kalorienwert bekannt sind, läßt sich der Koeffizient des Energieverbrauches bei Paraffin-, Wachs- und Glukoseoxydierung berechnen. Es erweist sich, daß der Energieverlust bei Paraffin- und Wachsoxydierung bedeutend höher ist, als bei Glukoseoxydierung, und zwar ist der Verlust um so höher, je höher die Potentialenergie des Stoffes ist: der Koeffizient des Energieverbrauches für Wachs beträgt 23,5%, für Paraffin 20,9%. Der Energieverbrauch fällt, wie es scheint, auf die ersten Phasen des Oxydationsprozesses. Diese Anfangsperiode des Oxydationsprozesses ist als Vorbereitungsstufe anzusehen, die, vom energetischen Standpunkt aus betrachtet, vom Organismus nicht ausgenutzt wird.

Äußere Bedingungen — Temperatur, Stickstoffquelle, Reaktion des Nährbodens und osmotischer Druck — üben keinen wesentlichen Einfluß auf die Energieverhältnisse bei Oxydationsprozessen aus.

A. Imšenecki (Leningrad).

Golding, N. S., The growth of Penicillium roqueforti on synthetic media. (Journ. of Dairy Science. Vol. 17. 1934. p. 61—74.)

Infolge der Schwierigkeiten, Roquefort-ähnlichen Schimmelkäse herzustellen, kam Verf. auf den Gedanken, in künstlicher Kultur entsprechendes Schimmelenzym anzureichern und dieses Schmelzkäsen nach dem Pasteurisieren beizufügen. Voraussetzung war die Herstellung des Schimmelenzyms in möglichst starker Konzentration. Es gelang, ein besonders kräftiges Wachstum der Pilzdecke von Penicillium Roqueforti zu erzielen, wenn die Kultur in einer modifizierten Dox-Salzlösung vorgenommen wurde unter Zufügung von 5% Kasein und 20% Glukose. Solange Glukose vorhanden war, blieb die Reaktion sauer, erst nach Verschwinden der Glukose trat eine Verschiebung nach der alkalischen Seite ein. Soweit diese vorläufigen Untersuchungen ein Urteil gestatten, konnte innerhalb der Beobachtungszeit (35 Tage) ein wesentlicher Unterschied in der Art des Eiweißabbaues bei verschiedenem pH nicht beobachtet werden, höchstens ein rascheres Ansteigen der „Sub-pepton"-Fraktion im neutralen Medium. Die von Penicillium Roqueforlii bei diesen Versuchen erzeugten Enzyme wurden noch nicht weiter studiert, es darf aber auf Grund der Untersuchungen anderer Autoren eine sehr starke Enzymbildung angenommen werden. Das Problem der praktischen Anwendung der Ergebnisse in der Schmelzkäserei bzw. seine Lösung bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Wetzel, A., Über die Zucht von Amoeba proteus. (Zool. Anzeiger. Bd. 105 1. 2. 1933 12. S. 14—16.)

Besser als die Knopsche Lösung bewährte sich ein Kulturmedium, das aus gekochter Gartenerde hergestellt wird. Die erhaltene Flüssigkeit wird nach Tagen abgegossen und filtriert, nochmals abgekocht und, wenn nötig, eingedickt; dann werden 2 Platinösen $FeCl_3$ zugesetzt. Dies ist die steril aufzubewahrende Stammlösung. Zur Verdünnung dient doppelt destilliertes Wasser; der pH muß dann 6—6,8 betragen; verfüttert werden Infusorien (Paramaecium, Colpidium, Glaucoma), die in Heuaufgüssen bereitzuhalten sind. Zur Zucht werden Amoeben in 20 ccm 2½proz. Erdabkochung in eine Boverischale eingesetzt, zugedeckt und an einem Nordfenster aufgestellt. Die Menge des zuzusetzenden Futters ist Erfahrungssache. Das Umsetzen der Amoeben in neues Kulturwasser geschieht monatlich einmal. Maßnahmen zur Beseitigung störender Mikroorganismen werden angegeben. K. Friederichs.

Burnet, F. M. und **Andrewes, C. H.**, Über die Natur der filtrierbaren Vira. Überblick über neuere Virusuntersuchungen, unter besonderer Berücksichtigung der einschlägigen Arbeiten aus dem National Institute for Medical Research, London. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 130. 1933. S. 161—181.)

Als wichtigste Erkenntnis der Virusforschung hat sich ergeben, daß die Vira selbständige biologische Einheiten darstellen, die bei ihrer Vermehrung die ihnen eigentümlichen Charakteristika vererben. Insbesondere machen die durch Ultraviolett-Dunkelfeldphotographie gewonnenen Bilder der größeren Vira die Annahme sehr wahrscheinlich, daß ihr Aufbau denen der Bakterien sehr ähnlich ist. Weiterhin bestätigen immunbiologische Untersuchungen die Individualität der Vira und decken zwischen Bakterien und Vira eine ganze Reihe von Parallelen auf. Auch die Bakteriophagen sind als selbständige Mikroorganismen zu betrachten. Zur Vollständigkeit der Vorstellung von Vira und Bakteriophagen als selbständige, lebende Organismen fehlt allerdings der Beweisschlußstein des unabhängigen Vorkommens, d. h. die Vermehrung im unbelebten Nährboden. — Ein Wort zu den annähernden Größenverhältnissen. Bei den Virusteilchen schwankt der Durchmesser zwischen 10 und 170 $\mu\mu$, bei den Bakteriophagen zwischen 10 und 70 $\mu\mu$. Diese Feststellungen erfolgen durch eine besondere Filtrationstechnik, bei den größeren Vira auch auf photographischem Wege unter Benutzung ultravioletten Lichtes. Rodenkirchen (Duisburg).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Weidenhagen, R., Die enzymatische Spaltung des Rohrzuckers und seiner Derivate. (Chemiker-Ztg. Bd. 58. 1934. S. 287—288.)

Für die enzymatische Spaltung der Glykoside und Oligosaccharide, vielleicht sogar für die einiger Polysaccharide, ist es ausreichend, einfache Glykosidasen anzunehmen, deren absolute Spezifität sich auf die Konstitution und Konfiguration des glykosidisch verknüpften Zuckers beschränkt. Die Natur des glykosidischen Paarlings ist für den Spaltungsvorgang als solchen unwesentlich und übt nur einen Einfluß auf die relative Spezifität aus, die sich vornehmlich in einer unterschiedlichen Spaltungsgeschwindigkeit ausdrückt. Durch diese Annahme wird der Zusammenhang zwischen der chemischen Konstitution und Konfiguration der Substrate einerseits

und der enzymatischen Spezifität anderseits wesentlich enger als bisher. Den drei charakteristischen Isomerien der Zucker (Zucker-Isomerie, α-, β-Isomerie und Ring-Isomerie) stehen drei gleichwertige Spezifitäten der Carbohydrasen gegenüber (Zuckerspezifität, α-, β-Spezifität und Ringspezifität). Sämtliche enzymatischen Zuckerhydrolysen finden mit diesen drei Spezifitäten eine ausreichende Erklärung. Die neue Vorstellung hat besonders interessante Konsequenzen für die Spaltung des Rohrzuckers. Infolge der Einengung der Enzymspezifität auf den glykosidisch verknüpften Zuckerrest müssen beim Rohrzucker infolge der doppelten glykosidischen Verknüpfung dieses Disaccharids zwei ihrer absoluten Spezifität nach verschiedene Enzyme vorhanden sein, β-, h-Fruktosidase und α-Glukosidase, die beide zur Spaltung des Rohrzuckers befähigt sind. Darüber hinaus muß aber auf Grund von Konstitution und Konfiguration dieselbe rohrzuckerspaltende α-Glukosidase zur Spaltung von Maltose und Melezitose befähigt sein, während umgekehrt die rohrzuckerspaltende β-, h-Fruktosidase ohne weiteres auch eine raffinosespaltende Wirkung an der fruktosidischen Bindung dieses Trisaccharides besitzen muß. Der Nachweis der Rohrzuckerspaltung durch zwei verschiedene Enzyme, der identisch war mit dem Nachweis einer rohrzuckerspaltenden Wirkung der Maltase (α-Glukosidase), gelang leicht mit dem Enzymgemisch der untergärigen Bierhefe. Das Trisaccharid Raffinose, bei dem nur die Fruktoseseite zum Angriff des Enzyms freiliegt, wird nur durch die Fruktosidase gespalten und ist gegenüber Glukosidase völlig resistent. Bei der Melezitose findet die Fruktosidase keinen Angriffspunkt, die α-Glukosidase aber findet ihrer Spezifität entsprechend zwei in der α-Modifikation verknüpfte Glukosen zum Angriff vor. Ihre umfassende Wirkung zeigt sich also darin, daß so verschiedene Kohlehydrate, wie α-Methylglukosid, Maltose, Saccharose und Melezitose hydrolysiert werden, deren gemeinsames Kennzeichen nur die in ihrer α-Form verknüpfte Glukose mit normaler Sauerstoffbrücke ist. Heuß (Berlin).

Stephenson, M., and **Stickland, L. H.,** Hydrogenase: III. The Bacterial Formation of Methane by the Reduction of One-Carbon Compounds by Molecular Hydrogen. (Biochem. Journ. Vol. 27. 1933. p. 1517—1527.)

Ein Bakterienstamm, der aus dem Ouse-Fluß isoliert war, in den gärungsfähige Abwässer einer Rübenzuckerfabrik geleitet wurden, konnte noch nach 3jähriger künstlicher Kultur anaerob Ameisensäure zu Methan reduzieren. Die Gegenwart von Na_2S war zur Reaktion nötig. Dasselbe Bakterium bildete anaerob Methan auch aus: CO, CO_2, H.CHO, CH_3OH. Nicol (Rothamsted).

Kulikow, W. und **Kologriwowa, W.,** Milchsäuregewinnung unmittelbar aus Gerste unter der Wirkung von Bac. Delbrücki. (Microbiology. Vol. 2. 1933. Nr. 4. p. 353—359.) [Russ.]

Bei Selbstverzuckerung der Gerste (bei 60° während 4 Std.) wird ungefähr die Hälfte der in den Gerstenkörnern enthaltenen Stärke in Zucker übergeführt. Die endgültige Verzuckerung des Restes vollzieht sich während der milchsauren Gärung unter dem Einfluß der Kornamylase. Die Milchsäureproduktion erreicht bei dieser Methode 92% des Stärkegehaltes der Körner, d. h. übertrifft bei weitem die Produktion bei Malzanwendung. Bei Vergärung der selbstverzuckerten Maische ohne Sterilisation bei 70° ist die Milchsäureproduktion höher, als bei Vergärung steriler Maische

Anwendung von angesäuertem Wasser bewirkt Abnahme der Produktion. Gerstenwürze besitzt, im Gegensatz zur Malzwürze die Eigenschaft, im Verlauf von 4—6 Tagen vollständig zu vergären und enthält weniger lösliche, stickstoffhaltige Verbindungen, infolgedessen wird reinere Milchsäure gewonnen. A. Imšenecki (Leningrad).

Cowles, P. B., A Bacteriophage for Cl. tetani. (Journ. of Bacter. Vol. 27. 1934. p. 163—164.)

Verf. gelang es, aus Mischkulturen von 5 Stämmen von Cl. tetani ein lytisches Agens zu gewinnen, das sich gegen 2 Stämme als wirksam erwies. Dieses Agens besaß alle Eigenschaften der bei anderen Bakterienarten bekannten Bakteriophagen. Es findet sich auch in erhitztem Sporenmaterial. Ein Einfluß auf die Toxinbildung konnte selbst bei Beobachtungen, die sich über einen Zeitraum von 1½ Jahren erstreckten, nicht festgestellt werden. Richter (Kiel).

Gildemeister, E. und **Herzberg, K.,** Bleibt die Phagenbildung bei strengstem Sauerstoffabschluß aus? Bemerkung zu einer Arbeit von C. Hallauer. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 131. 1934. S. 255—256.)

Während Verff. nach früheren Ergebnissen die Unabhängigkeit der Phagenbildung vom Sauerstoffpartialdruck nachwiesen, fand Hallauer bei besonders starker Anoxybiose keine Phagenvermehrung. Diese negativen Befunde erklären sich daraus, daß Hallauers Versuchszeit nur 4 Std. betrug, innerhalb deren keine Keimvermehrung stattfinden konnte. Ohne Keimvermehrung ist aber auch keine Phagenbildung möglich. Es wird deshalb empfohlen, die Versuchszeit auf 8—12 Std. festzulegen und Keimeinsaaten von ca. 20—40 Millionen zu wählen. Rodenkirchen (Duisburg).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Demeter, K. J. und **Sauer, F.,** Beiträge zur Kenntnis der Coli-aerogenes-Bakterien in Milch. (Milchwirtschaftl. Forschungen. Bd. 16. 1934. S. 236—275, 16 Tab., 1 Abb.)

115 aus Milch isolierte Stämme der Coli-aerogenes-Gruppe wurden mittels der Indol-, Methylrot-, Voges-Proskauer- und Zitratprobe (Aufstellung sog. Reaktionskombinationen) auf ihre Zugehörigkeit zur einen oder anderen Art geprüft. Ob das Alter der Stämme und ihre Kultur auf künstlichen Nährböden einen Einfluß auf ihre physiologischen Leistungen ausüben, sollte die Wiederholung der 4 Proben nach einjähriger Pause zeigen. Die auf diese Weise erhaltenen Ergebnisse wurden auch für die Erklärung der Zwischenformen herangezogen. — Die Indolprobe schien nur wenig vom Alter der Stämme abhängig zu sein. Auch die Zitratprobe erwies sich, abgesehen von einer geringen Verflachung, als gut konstant. Dagegen zeigten sich die Methylrotprobe und insbesondere die Voges-Proskauerprobe als wesentlich variabler. Sie gaben bei der 2. Prüfung der Stämme weniger positive Ergebnisse als bei der 1. Untersuchung. Im Vergleich mit der gewöhnlichen Laktosebouillon war die schädigende Wirkung des Kristallvioletts in dem Nährboden nach Salle unverkennbar. 15,3% der Stämme konnten in dieser Bouillon kein Gas bilden. — Nach ihrem Verhalten bei den verschiedenen Reaktionen scheinen diese empfindlichen

Stämme Aerogenes-Stämme zu sein. An Hand der Vergärungsergebnisse von Kohlehydraten (Laktose, Saccharose, Dulzit, Inosit und Rhamnose) wurden 12 Gruppen gebildet, die zum Teil Beziehungen zu den sog. „Reaktionskombinationen" zeigten. Unter den Gelatineverflüssigern schienen die deutlich gramnegativen zur Coli-Verwandtschaft, die nach der grampositiven Seite neigenden eher zur Aerogenes-Verwandtschaft zu gehören. — Insgesamt wurden nach Ausschluß der Gelatineverflüssiger 25,3% der Coli-Gruppe, 19,2% der Aerogenes-Gruppe und 55,5% den Zwischenformen zugeteilt. H. Mossel (Jena).

Prouty, C. C., Further studies of the effect of pasteurization on the bacterial flora of low count milk. (Journ. of Dairy Science. Vol. 17. 1934. S. 115—120.)

Frühere Laboratoriums-Pasteurisierungsversuche in Flaschen bei 61,4° C während 30 Min. zeigten, daß das Verhältnis der Säurebildner verringert wurde und daß diese Bakteriengruppe für das Verderben von erhitzter Milch geringen Ausgangskeimgehaltes nicht in wesentlichem Ausmaß verantwortlich ist. Verf. stellte sich im Vorliegenden die Aufgabe, diese Verhältnisse auch unter praktischen Verhältnissen zu untersuchen, wo eine nachträgliche Infektion möglich ist. Zur Pasteurisierung diente ein Burrel-Simplex-Pasteurisierungsapparat, in dem die Milch sofort auf 62 bis 62,8° C erhitzt, 30 Min. gehalten und anschließend sofort gekühlt und abgefüllt wurde. Zur Verfügung standen 75 Proben roher und pasteurisierter Milch, die nach 24 und 48 Std. Aufbewahrung bei 21° C erneut analisiert wurden. Die Keimgehalte der 75 Rohmilchproben schwankten von 2500—50 000 pro ccm. Es ergab sich folgendes:

Der Prozentsatz der Säurebildner sank infolge der Erhitzung von 29,4 auf 18,8%, derjenige der Proteolyten von 7,0 auf 5,0, während die Indifferenten und Alkalibildner von 63,6 auf 76,2% anstiegen. Nach 24 Std. war der Prozentsatz der Säurebildner in der rohen und pasteurisierten Milch 92,1% bzw. 12,4%. Bezüglich der Proteolyten war im Verlaufe der 24 Std. Aufbewahrung keine Veränderung aufgetreten, dagegen wies die indifferente und Alkalibildner-Gruppe in der pasteurisierten Milch einen Bestand von 86,4% auf im Gegensatz zu nur 7,35% in den entsprechenden Rohmilchproben. Bezüglich Geschmack und Geruch schnitt die pasteurisierte Milch nach 24 Std. besser als die rohe ab. Nach 48 Std. zeigten 98,7% der Rohmilchen Säuregerinnung, während von den pasteurisierten Milchen nur 57,3% geronnen waren. 96% der Flora der ersteren bestand aus Säurebildnern, im Vergleich zu 76,1% der letzteren. Die Proteolyten betrugen 1% in beiden Fällen, die Indifferenten und Alkalibildner 3,96% in der rohen und 23,7% in der erhitzten Milch. 20% der erhitzten Milchen besaßen nach 48 Std. einen deutlich bitteren Geschmack.

Für die Verderbnis von pasteurisierter Milch sind also nicht die Säurebildner verantwortlich zu machen, sondern andere Keime, sofern die Ausgangsmilch von vornherein einen niedrigen Keimgehalt aufweist.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Prouty, C. C., A comparison of the leucocyte count, the brom thymol blue reaction and the catalase content of freshly drawn milk. (Journ. of Dairy Science. Vol. 17. 1934. p. 75—81.)

Es konnte mit steigendem Zellgehalt eine gleichsinnige Abnahme in der Zahl derjenigen Milchproben festgestellt werden, die sich in der Bromthymolblau- und Katalaseprobe normal verhielten. Die Abweichung vom Normalen wurde jedoch mittels der Katalaseprobe besser erfaßt als durch die ph-Bestimmung. Die Beziehungen der Prozentsätze

geordnet nach den auf Grund des Leukozytengehaltes erhaltenen Gruppen, waren folgende:

Leukozytengehalt	Weniger als 100 000	100 000 bis 250 000	250 000 bis 500 000	500 000 bis 750 000	750 000 bis 1 000 000	1 Mill. bis 2 Mill.	Mehr als 2 Mill.
Normal bei d. Katalaseprobe (%)	88,5	66,5	39,5	31,0	8,0	3,9	3,1
Normal bei d. Bromthymolblauprobe (%)	99,0	94,9	79,0	48,4	43,0	17,3	18,7

Wurden nur solche Kühe geprüft, von denen während der ganzen Zeit der Untersuchung überhaupt nie verdächtige Milch sezerniert worden war, betrug der Leukozytengehalt der Bromthymolblau-negativen Milchen durchschnittlich 160 000 pro ccm und derjenige der Katalase-normalen Milchen nur 72 000 pro ccm. Daraus ergibt sich, daß der durchschnittliche Zellgehalt von Milch normaler gesunder Kühe bedeutend geringer ist, als frühere und neuere Forscher berichtet haben. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Hüttig, C., Bakteriologische Versuche über die Einwirkung von Duwokgärfutter und duwokhaltigem Heu auf die Eignung der Milch für die Weichkäserei. (Michwirtschaftl. Forschgn. 16. Bd. 1934. S. 227—235.)

Die Verkäsung roher Duwokmilch ohne Zugabe von Milchsäurebakterienkulturen ergab keine einwandfrei gereiften Frühstückskäse (nach Limburger Art). Verzögertes Dicklegen der Milch, fehlerhafter p_H der jungen Käse und Mangel an geeigneten Milchsäurebakterien verursachten die Fehlreifung (Ablaufen der Außenpartie). Zusatz von Rahmsäuerungskultur bewirkte normale Reifung. In stark vorgereifter Milch konnte jedoch Streptococcus faecium gelegentlich die günstige Wirkung des Streptococcus lactis auslöschen. Das Fehlen des Streptococcus lactis in der unbeimpften Milch konnte durch ein natürlich vorkommendes Milchsäurestäbchen der Gruppe des Streptobacterium casei ersetzt werden. Eine Beeinflussung der Milch durch Verfütterung von Duwok-Gärfutter und duwokhaltigem Heu konnte nachgewiesen werden, nicht aber, ob die Veränderungen der Milch auf den Einfluß des Duwoks oder auf das Gärfutter als solches zurückzuführen sind. H. Mossel (Weihenstephan).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Sorokina, A. W. und Tjagni-Rjadno, M. G., Zur Frage der Bedeutung der Mikroorganismen bei der Humusbildung. (Microbiology. Vol. 2. 1933. p. 285—291.) [Russisch.]

Es wurde eine Reihe von Versuchen ausgeführt, die die Aufgabe hatten, festzustellen, ob Humusbildung aus dem Myzel von Pilzen möglich sei. Die Versuche wurden mit abgetötetem Myzel von Aspergillus niger von verschiedenen Nährböden und mit Zusatz verschiedener Mikroorganismen durchgeführt; Versuchsdauer 2 Monate bei 25—30° C. Die Ergebnisse wurden nach der Bildung der α- und β-Fraktion organischer Substanz, be-

stimmt nach der Methode von Waksman, beurteilt. Es erwies sich, daß Humusbildung aus toten Mikroorganismenzellen möglich ist, und zwar findet neben der Humusbildung auch Zersetzung des Humus statt. Das gegenseitige Verhältnis beider Prozesse hängt von der Art der am Versuch beteiligten lebendigen Mikroorganismen ab. Einige (Actinomyces flavus, Bac. mycoides, zellulosezersetzende Bakterien) rufen hauptsächlich Zersetzungsprozesse hervor, während andere (Aspergillus niger) vornehmlich synthetische Prozesse veranlassen. Besonders starke Humusbildung trat bei Impfen mit Bodensuspension im Wasser ein, vermutlich infolge der Fähigkeit irgendwelcher noch nicht bekannter Mikroben. Alkalische Substrate (ph = 8) verstärken die Mineralisierung, saure (ph = 5) die synthetischen Prozesse. Düngungsmittel (Superphosphat) fördern die Mineralisation des Humus. Am stärksten verläuft die Humusbildung in natürlichem Substrat, während sie in künstlichem Boden weniger ausgesprochen ist. In flüssigem Nährboden von Czapek tritt nur Mineralisation ein. A. Imšenecki (Leningrad).

Sarkaria, R. S., Berseem Inoculation Experiments in the Punjab. (Agriculture and Livestock in India. Vol. 3. 1933. Vol. 3. 1933. p. 16—32.)

Die Knöllchenbakterien von Berseem (Trifolium alexandrinum) fehlten in den meisten Böden des Punjab. Eine „Impfung" der Samen gab nicht nur stets erhöhte Ernten dort, wo die Pflanze vorher nicht kultiviert worden war, sondern es waren bei Impfung auch sonst größere Gewinne erreichbar, als bei irgendeiner Düngungsart.

Nicol (Rothamsted).

Israilski, W. E., Runow, E. B. und **Bernard, W. N.,** Knöllchenbakterien und Nitragin. 1933. 232 S. [Russisch.]

Im ersten Teil des Werkes, der vornehmlich den Knöllchenbakterien gewidmet ist, gibt Israilski eine historische Übersicht und eine Beschreibung der Morphologie dieser Bakterien, mit besonderer Berücksichtigung der Bedeutung und Bildung von Bakterioiden und Zelleinschlüssen.

Weiter wird von ihm die Entwicklung, der Bau und die Klassifikation der Knöllchen erörtert. Bei Beschreibung der Rassen der Knöllchenbakterien erörtert Verf. ihre serologischen, biochemischen und kulturellen Eigenschaften, ihre Spezifität zu Pflanzen und die Nomenklatur. Im Abschnitt über die Physiologie der Knöllchenbakterien werden die Kohlen- und Stickstoff-Quellen sowie die Oxydations- und Reduktionsprozesse erörtert. Der umfangreiche Abschnitt über Pleomorphie enthält eine Anzahl eigener Untersuchungen. Eingehend behandelt sind ferner die Frage der Symbiose, des Parasitismus, der Immunität und der Bakteriophagie. Israilski führt auch Methoden zur Isolierung, Kultivierung und Färbung der Knöllchenbakterien an.

Im zweiten Teil des Buches (Verff. Runow und Bernard) wird eingehend die Methodik der Bestimmung der Bakterien im Boden beschrieben, speziell in der Rhizosphäre der Pflanzen. Ferner wird der Entwicklungsverlauf, die Verbreitungsgeschwindigkeit und die Lebensdauer der Knöllchenbakterien im Boden betrachtet, auch ihr Verhältnis zu den Bodenbakterien. Unter den auf die Bakterien Einfluß ausübenden physikalischen und chemischen Faktoren ist besonders beachtet worden der Einfluß stickstoffhaltiger Düngung, P, K, Ca und Mg. Im Abschnitt über Nitragin werden

die Methoden der Bereitung und Anwendung beschrieben, ferner die Ergebnisse der Anwendung auf verschiedenen Bodenarten.

A. Imšenecki (Leningrad).

Sasaki, S., Anaerobe Bakterien im Boden. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 131. 1934. S. 211—212.)

Verf. untersuchte nach der Methode von Zeißler und Raßfeld in der Zeit von September 1931 bis Juni 1932 160 Bodenproben in Mitteljapan. Die Ergebnisse entsprechen ungefähr denen, die Zeißler und Raßfeld in Deutschland ermittelten. Es fanden sich:

B. Welchii	in 160	Fällen	= 100 %	
B. putrificus verrucosus	„ 113	„	= 70,6%	91,2%
B. putrificus tenuis	„ 33	„	= 20,6%	
B. amylobacter	„ 105	„	= 65 %	
N. Novyi	„ 91	„	= 56,9%	
Pararauschbrandbazillus	„ 33	„	= 20,6%	
B. sphenoides (?)	„ 30	„	= 18,7%	
B. tetanomorphus	„ 23	„	= 14,3%	
B. tetani	„ 17	„	= 10,6%	
nicht näher bestimmte Anaeroben	„ 11	„	—	

Zum Nachweis des Tetanusbazillus wurde die Anreicherung in der Maus benutzt, da er in Konkurrenz mit säurebildenden Bazillen (B. Welchii, Amylobacter) häufig in der Ausgangskultur auf Zeißler-Platten nicht angeht. — Im wasserreichen Boden wurden zahlreichere Arten von Anaeroben gefunden als im trockenen Land. Die Jahreszeit und die Wasserstoffionenkonzentration des Bodens hatten keine Beziehung zu den Arten der gefundenen Anaeroben. Rodenkirchen (Duisburg).

Grimmer, W. und **Grenz, A.,** Sterilisierung von Brunnenwässern. (Milchwirtschaftl. Forschgn. 16. Bd. 1934. S. 195—199, 4 Tab.)

Keimreiche Wässer lassen sich durch Behandlung mit Chlorkalk besonders aber mit Caporit und nachfolgende Entfernung des Desinfektionsmittels durch Aktivkohle (Hydraffinkohle der Lurgi-Gesellschaft für Wärmetechnik m. b. H., Frankfurt/M.) in keimarme bis keimfreie Gebrauchswässer verwandeln. Weniger geeignet ist Permanganat wegen seiner geringen keimtötenden Wirkung und weil es sich nicht restlos aus dem Wasser entfernen läßt. Chlorreste waren in dem filtrierten Wasser nicht feststellbar.

H. Mossel (Weihenstephan).

Damm, Döring, Dyrenfurth, Hübner und **Richter,** Die Gebrauchswasserversorgung von Molkereien und anderen Nahrungsmittelbetrieben. Verlag der Molkereizeitung Hildesheim. 1933. 146 S., 7 Tab., 59 Abb. u. 2 Anlagen. Preis 3 RM.

Während die Bedeutung des Wassers für Nahrungsmittelbetriebe, insbesondere Molkereien, heute immer mehr erkannt wird, haben die notwendigen Kenntnisse über die günstigste Art der Wassergewinnung und die weitere Behandlung keineswegs damit Schritt gehalten, im speziellen mangelte es an einer zusammenfassenden Behandlung dieser Frage in einer Form, die auch dem Praktiker zugänglich ist. Diesem Mangel haben die Verff. mit dem vorliegenden Werkchen abgeholfen; es kann jedem Wasserinteressierten, nicht bloß dem Molkereifachmann, aufs wärmste empfohlen werden, auch der Chemiker und Bakteriologe kommt auf seine Rechnung. Der Inhalt ist folgender: Reichsmilchgesetz und Wasserversorgung; Wasser-

gewinnung (geologische Grundlagen, Brunnenbau, Wasserförderung, Wasserverteilung, Wirtschaftlichkeit von Wassergewinnungsanlagen); Wasseraufbereitung (allgemeine Anforderungen an Molkereigebrauchswasser, Bakteriologie der durch Wasserorganismen verursachten Milchfehler, Untersuchung des Wassers, Probenahme und chemische Untersuchung, Probenahme für die bakteriologische Untersuchung und Methodik der letzteren, spezielle Aufbereitung in chemischer und bakteriologischer Beziehung, Entkeimung auf chemischem Wege oder durch Filtration); Rechtsgrundlagen für die Wassergewinnung. — Das Verständnis des Inhalts wird durch die zahlreichen guten Abbildungen und schematischen Zeichnungen wesentlich unterstützt. Dem Werkchen ist weiteste Verbreitung zu wünschen. K. J. Demeter (Weihenstephan).

Burke, V., Interchange of Bacteria between the fresh water and the sea. (Journ. of Bacter. Vol. 27. 1934. p. 201—205.)

Zu den Untersuchungen wurde Material aus Meerwasser, Süßwasser, Boden und Mageninhalt von Fischen verwendet. Als Nährboden wurde ein Nährboden folgender Zusammensetzung verwendet: 5 g Pepton, 3 g Fleischextrakt, 30 g Gelatine, 100 ccm Kartoffelextrakt, 15 g Agar und 900 ccm Meerwasser bzw. Süßwasser. Der Nährboden wurde auf p_H 8,0 eingestellt. Aus allen Proben gelang es Organismen zu gewinnen, die auf heterologem Nährboden wuchsen, wenn auch die Zahl der angehenden Keime auf homologem Nährboden größer war. Anscheinend wird dieser Unterschied durch das Vorhandensein besonders empfindlicher Organismen bei bestimmten Arten bedingt. Veränderungen im Salzgehalt können Veränderungen in den Eigenschaften bei bestimmten Arten hervorrufen. Neue Arten sollen deshalb auf Nährmedien, die mit Süß- und Seewasser hergestellt sind, gezüchtet werden, um eine einwandfreie Charakteristik zu ermöglichen. Die Sporenbildung bei Bac. subtilis wurde durch Züchtung auf Seewassernährböden begünstigt. Richter (Kiel).

Schaafsmann, I. N. D. R., Die Reinigung von Wasser mittels Aktiv-Kohlen. (Gesundheitsing. Bd. 56. 1933. S. 101.)

Nach einer kurzen Beschreibung der Betriebe in Deutschland und Indien, welche Aktiv-Kohle zur Wasserreinigung benutzen, und der Erfahrungen mit diesem System, werden die Ergebnisse der Versuche zur Entfernung verschiedener organischer Verbindungen aus Wasser durch Chlorung und Filtration über Hydraffin-R II-Kohle bekanntgegeben. Es stellte sich heraus, daß von den untersuchten Verbindungen nur die Huminstoffe aus Moorwasser mit Erfolg nach diesem Verfahren entfernt werden können. Limbach (Leipzig).

Blunk, H. und **Prüß, M.,** Reinigung von Abwasser durch stufenweise biologische Behandlung. (DRP. 582 965, vom 10. 8. 1933.)

Nach dem Verfahren werden Abwässer zunächst in einem biologischen Körper, dann nach dem Belebtschlammverfahren behandelt. Es findet ein Tropfkörper Verwendung, aus dem das Abwasser zusammen mit dem ausgeschiedenen Humusschlamm unmittelbar der nachgeschalteten Belebtschlammanlage zugeleitet wird. Limbach (Leipzig).

Kuschnarew, M. A., Die mikrobiologische und biochemische Reinigung des Abflußwassers beim Gerbprozeß durch aktiven Schlamm. (Microbiology. Vol. 2. 1933. No. 2. p. 185—192.) [Russisch.]

Die Mikroorganismenzahl des Abflußwassers ist, den Jahreszeiten entsprechend, bedeutenden Schwankungen unterworfen — im Dezember 756 000 in 1 ccm, im Juli 44 Millionen. Vorherrschend sind Bakterien der Fäulnisprozesse, während Bakterien der Harnstoffgärung, denitrifizierende Bakterien und Thionsäurebakterien in geringerer Anzahl vertreten sind. Auch Aspergillus niger wurde isoliert. Der Letztere wächst auf Nährböden, die als einzige Kohlenstoffquelle Tannin enthalten. Vom Sanitätsstandpunkt aus ist das Vorhandensein pathogener Arten von Bact. paracoli interessant, der Colititer betrug 0,000001. Bei den Versuchen, Abflußwasser mittels aktivem Schlamm zu reinigen, verlor dasselbe nach einigen Stunden der Schlammwirkung völlig den Fäulnisgeruch, klärte sich, Ammoniak verschwand, während Nitrite und Nitrate auftraten. Während des Reinigungsprozesses verändert sich der qualitative Bestand der Mikroflora. Die Bakterien der Fäulnisprozesse und der Harnstoffgärung verschwinden schnell, während die Zahl der nitrifizierenden und der Thionsäurebakterien zunimmt. Die Thionsäurebakterien sind aktiv an den Oxydationsprozessen der Schwefelverbindungen beteiligt, indem im Abflußwasser enthaltener Schwefelwasserstoff und Hyposulfit im Verlauf von 4 Std. zu Schwefelsäure oxydiert werden. Nach Ansicht des Verf.s ist das gereinigte Wasser nur zu Betriebszwecken verwendbar.

A. Imšenecki (Leningrad).

Kammann, O., Reinigung von Gerberei- und ähnlichen Abwässern. (DRP. 582 662, vom 3. 8. 1933.)

Es wird ein Verfahren zur Reinigung von Gerbereiabwässern und ähnlichen, für Mikroorganismen giftige oder entwicklungshemmende Stoffe enthaltenden Abwässern durch Behandlung mit belebtem Schlamm, der aus häuslichen Abwässern stammt, beschrieben. Die Organismenwelt des Belebtschlammes wird durch stufenweise steigenden Zusatz des zu reinigenden Abwassers diesem allmählich angepaßt. Das Neue bei diesem Verfahren besteht darin, daß dem Schlamm während der Einarbeitungsperiode gleichzeitig mit dem zu reinigenden Abwasser geringe Mengen von Kupfersalzen, ferner auch sauerstoffübertragende Katalysatoren, wie Nickelsalze, beigefügt werden, welche die Entwicklung schädlicher Mikroben hemmen, ohne die bei der biologischen Reinigung wirksamen Organismen zu schädigen.

Limbach (Leipzig).

Penschuck, M., Verfahren zur Reinigung von Abwasser oder Oberflächenwasser. (DRP. 577 830, vom 18. 5. 1933.)

Nach dem Verfahren werden stärker verdünnte Fällmittellösungen angewandt, als bisher üblich, z. B. wird mit nur ca. 3—5‰ Tonerdesulfat gearbeitet; weiterhin werden geringere Wassergeschwindigkeiten als bisher beim Mischen der Fällösung mit dem Abwasser angewendet. Eine wirksamere Entfernung der gesamten Schwebestoffe wie auch der organischen Verbindungen erfolgte dann, wenn die Flockenbildung nicht beschleunigt, sondern eher verzögert wurde, was durch die hier angewendeten Maßnahmen erreicht wird. Ein sehr stark verunreinigtes Abwasser, das je cbm 35 g trockene Wollfasern, 200 g in Äther lösliche Fettsubstanz, 180 g äußerst

fein suspendierte anorganische und organische Stoffe, 13—15 g Schwefelwasserstoff und gelöste Anilinfarbstoffe resp. deren Spaltungsprodukte und Leukoverbindungen enthielt und das an der Kläranlage in stark angefaultem Zustande mit einer Sporenzahl von 3 Millionen/ccm ankam, enthielt nach der Klärung in der angegebenen Weise nur noch 10 000 bis 15 000 Sporen/ccm. Sämtliche sichtbaren Verunreinigungen einschließlich der Farbstoffe und des Schwefelwasserstoffs waren beseitigt; das Klärprodukt faulte nicht nach. Limbach (Leipzig).

Rasumow, A. S., Microcoleus chtonoplastes und die Möglichkeit seiner Anwendung bei Seesalzgewinnung. (Microbiology. Vol. 2. 1933. p. 296—300.) [Russisch.]

Bei Salzgewinnung aus den Salzseen der Krim mittels Ausdünstung in der Sonne ist Verunreinigung des sich setzenden Salzes durch Schlamm leicht möglich. Die Schleimschicht, welche den Boden einiger Gewässer deckt, schützt das Salz vor Verunreinigung. Diese Schleimschicht besteht aus mikroskopischen Algen — Microcoleus chtonoplastes, Familie Oscillatoriaceae. Die Algen entwickeln sich mit Vorliebe in salzigen Gewässern von 13—15° Bé Salzkonzentration, insbesondere wenn der Boden aus schwarzem, plastischem Schlamm besteht.

Bei Einrichtung spezieller Bassins für Salzgewinnung können günstige Bedingungen für die Entwicklung der Algen und für die Ausnutzung derselben bei der Salzgewinnung geschaffen werden.

A. Imšenecki (Leningrad).

Mikrobiologie von Holz usw.

Krieg, W. und **Pflug, H.,** Über einige Methoden zur Prüfung von Holzkonservierungsmitteln. (Chemiker-Ztg. Bd. 57. 1933. S. 773—774 u. 794—795.)

Zur richtigen Beurteilung von Holzkonservierungsmitteln ist außer der Kenntnis ihrer pilzwidrigen Kraft vor allem diejenige ihrer Auslaugbarkeit aus dem getränkten Holz durch Wasser, sowie ihres Verhaltens gegenüber Metallen — besonders Eisen — von großer Bedeutung. Das Konservierungsmittel muß nicht nur das Holz vor dem Befall durch Schädlinge schützen, es darf auch keinerlei chemische Wirkung auf die Metallteile, mit denen das Holz in Berührung kommt, ausüben. Verff. geben geeignete Methoden zur Bestimmung der Auslaugbarkeit und des Verhaltens gegen Metalle bekannt. Heuß (Berlin).

Imšenecki, A., Über Mikroorganismen, die ein Verderben von Viskosefabrikaten bewirken. (Microbiology. Vol. 2. Nr. 4. p. 369—376.) [Russisch.]

Verschlußkappen für Flaschen aus Viskose verloren beim Aufbewahren ihre Elastizität und wurden brüchig. Von denselben wurden Penic. oxalicum, Torulopsis rufula und Tor. globosus isoliert. Infektion der Fabrikate mit diesen Pilzen bewies, daß sie die Ursache ihres Verderbens sind. Isolierte Pilze werden bei 60° während 5 Min. vernichtet. In bezug auf ihre bakterizide Wirkung stehen verschiedene Salze in folgender Reihenfolge: $NaCl < Na_2SO_3 < NaHCO_3 < KHSO_3 < KHSO_4 < NaHSO_3$. Die letztere Verbindung wird als Mittel gegen Verderben der Verschlußkappen empfohlen. A. Imšenecki (Leningrad).

Carbone, D., L'influence du fer sur la coloration des fibres dans le rouissage par le B. felsineus. (Deuxième note.) (Soc. Intern. di Microbiol. — Boll. della Sez. Ital. Vol. 5. 1933. p. 275—279.)

Verf. hat den Einfluß verschiedener Metalle und ihrer Salze auf die Gespinstfaser-Röste und auf die Färbung der Faser untersucht, ausgehend von der Frage, wie die unerwünschte schwarze oder graugrüne Verfärbung der Faser durch Eisen am besten vermieden werden könne. Er kommt zu dem vorläufigen Ergebnis, daß metallisches Eisen den Röstvorgang nicht hemmt, dagegen die erwähnte Verfärbung bewirkt. Durch Uran- und Titannitrat wird die Faser rötlich bzw. bräunlich gefärbt. Kupfer färbt grünlich und beeinträchtigt ebenso wie Zink den Röstvorgang stark. Blei gibt eine dunklere Farbe. Verf. kommt zur praktischen Schlußfolgerung, daß die eisernen Rohrschlangen am besten emailliert oder verzinnt werden. Als Ersatz für das Eisen käme, wenn finanziell erschwinglich, auch in Frage nicht oxydierbarer Stahl. Bortels (Berlin-Dahlem).

Carbone, D., L'influence du fer sur la coloration des fibres dans le rouissage par le „Bacillus felsineus" (Troisième Note). (Soc. Intern. di Microbiol. — Boll. della Sez. Ital. Vol. 5. 1933. p. 339—341.)

In Fortsetzung seiner wissenschaftlichen Untersuchungen über den Einfluß des Eisens und anderer Metalle auf den Röstvorgang und die mitunter auftretenden Verfärbungen der Gespinstfasern von Lein und Hanf kommt Verf. zum Schluß, daß als Ersatz für das ungeeignete Eisen der Gefäße und Rohrschlangen sowohl nicht-oxydierbarer Stahl als auch lackiertes Eisen und Aluminium dienen können. Es ist jedoch noch nicht entschieden, welche der genannten Stoffe für die Praxis in Frage kommen.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Kaden, O. F., 1. Observations concerning the healthiness of coffee trees in Costa Rica. (Tropic. Agriculture, Trinidad. Vol. 9. 1932. p. 350—351.) — 2. Das Kaffeesterben in Angola, eine physiologische Welkekrankheit. (Tropenpflanzer. Bd. 36. 1933. S. 139—146.)

Der erste Aufsatz schildert kurz die günstigsten Bedingungen für die Kaffeekultur in Kostarika und geht auf die wenigen dort vorhandenen Krankheiten ein, bei deren Bekämpfung er die Kulturmaßnahmen besonders betont. Im Mai, zu Ende der Trockenzeit, treten als Schwächeparasiten auf die Schildläuse Pseudococcus citri, Coccus sp. und Saissetia hemisphaerica, die Spinnmilbe Epitetranychus althaeae und die Blattfleckenkrankheit Cercospora coffeicola. Eine Wurzelhalsfäule wird von einer Rosellinia spec. verursacht; die von Umphalea flavida herrührende Blattfleckenkrankheit tritt bei zu dichtem und zu feuchtem Stand auf, ist aber leicht durch richtigen Schnitt und durch Auslichten der Kaffee- und Schattenbäume, sowie gelegentlich durch Drainage zu beseitigen. Außerdem kommt noch eine rasch verlaufende Welkekrankheit vor, die mit Störungen des Wasserhaushalts auf ungünstigen Böden zusammenhängt. Dieselbe Ursache scheint auch das beobachtete frühzeitigere Reifen der Kaffeekirschen

zu haben. Verf. empfiehlt entsprechende Kulturmaßnahmen, hauptsächlich Düngung mit Stallmist, Kompost von Gründüngungspflanzen oder „Adco"-dünger.

In der zweiten Abhandlung wird eine in Angola an Robusta-Kaffee umfangreich auftretende, der vorstehend erwähnten sehr ähnliche Welkekrankheit des näheren geschildert, die dort als „mela" (= Gelbe) bezeichnet wird. In der Trockenzeit werden normal aussehende Bäume plötzlich welk und sterben in wenigen Tagen ab. Entgegen bisherigen Erklärungsversuchen weist Verf. nun nach, daß es sich um eine nichtparasitäre Krankheit handelt, und belegt dies u. a. mit zahlreichen Bodenuntersuchungen. Zur Verhütung der Krankheit werden Kulturmaßnahmen, wie Beschattung, Windschutz, Bodenbedeckung und organische Düngung empfohlen.

Morstatt (Berlin-Dahlem).

Klemm, M., Ernteschäden durch Schwarzrost in Deutschland im Jahre 1932. (Nachrichtenbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 9—11, 1 Abb.)

Der Schwarzrost trat 1932 stark in den Provinzen Ostpreußen, Nieder- und Oberschlesien auf. In 2 Tabellen werden Ernteerträge und Ernteverlust im Jahre 1932 und Güte der Winterweizenernte, Durchschnittsernte und Auftreten von Schwarzrost in den Jahren 1928—1932 dargestellt. Der Gesamtverlust im Jahre 1932 wird auf 38 Millionen RM. berechnet.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Krieg, H., Rotenon, ein neues und zukunftsreiches Insektenbekämpfungsmittel. (Chemiker-Ztg. Bd. 57. 1933. S. 949—950.)

Rotenon, mit der Formel $C_{23}H_{22}O_6$, kommt in den Wurzeln vieler tropischer Papilionaceen vor und wird vorwiegend aus den Wurzeln von Derris eliptica gewonnen, deren Gehalt etwa 0,5—6% beträgt. Die übrigen Stoffe, wie Deguelin, Tepterosin, Toxikarol, die daneben in den Schmetterlingsblütlern vorkommen, sind gegenüber dem Rotenon von untergeordneter Bedeutung, da sie an dessen Giftwert bei weitem nicht heranreichen. Der Giftwert von Rotenon gegen Insekten, besonders gegen Blatt- und Schmierläuse, Milben, Thripse, bestimmte Käfer und Raupen, liegt um ein Vielfaches über dem von Nikotin und Arsen. Die Giftigkeit von Rotenon für Warmblüter ist dagegen viel geringer, zudem zersetzt es sich an der Luft, so daß man damit behandelte Früchte und Gemüse schon 2 Tage später unbedenklich genießen kann. Vor allem ist Rotenon im Gegensatz zu den meisten Arsenikalien für empfindliche Kulturpflanzen und selbst für Blüten unschädlich. Im Gegensatz zu den Pyrethrinen, deren Wirkung rasch und heftig ist, tritt der Effekt bei Rotenon langsam und weniger augenfällig, aber nachhaltiger ein: die Schädlinge erschlaffen und gehen allmählich, aber sicher ein. Rotenon wird wie andere Pflanzenschutzmittel sowohl als Spritz-, wie als Zerstäubungsmittel zur Anwendung gebracht und ist bereits im Pflanzenschutz der Welt weit verbreitet. Heuß (Berlin).

Rosen, H. R., Influence of spray applications on air temperatures surrounding sprayed potato plants. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 912—916.)

Die Beobachtung, daß in den südlichen Teilen von Arkansas durch Kupferkalkbrühe häufiger Verbrennungen an Kartoffeln hervorgerufen werden, veranlaßte Verf., Untersuchungen über die Temperaturen in ge-

spritzten und nicht gespritzten Feldern anzustellen. Es zeigte sich, daß in der Nähe von gespritzten Pflanzen ein plötzlicher Temperaturabfall von 1,5—8° C eintritt. Da nach Ansicht des Verf.s in den südlichen wärmeren Gegenden der Temperaturabfall größer als in den nördlicheren ist, sind die in den wärmeren Gegenden beobachteten Verbrennungen vielleicht auf das plötzliche Absinken der Temperatur nach der Spritzung zurückzuführen.
Winkelmann (Berlin-Dahlem).

McDaniels, L. H., and Burrell, A. B., The effect of sulphur fungicides, applied during the bloom, on the set of apples fruits. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 144—150.)

Es zeigte sich, daß durch Schwefel kurz vor oder kurz nach der Befruchtung der Fruchtansatz vermindert wird. In Anbetracht dessen, daß auf Agar die Keimung der Pollen in weit stärkerem Maße verhindert wird, ist es überraschend, daß die Verminderung des Fruchtsansatzes nicht größer ist. Das wird in der Hauptsache darauf zurückzuführen sein, daß in der Blüte ein Teil des Pollens überhaupt nicht mit dem Schwefel in Berührung kommt. Schwefelkalkbrühe scheint den Ansatz stärker zu vermindern als gestäubter Schwefel. Bei den Versuchen wirkte sich Spritzen oder Bestäuben zu Anfang der Blüte stärker aus als am Ende der Blüte. Weitere Versuche über das Eindringen des Pollenschlauches durch den Griffel zeigten, daß die Pollenschläuche in 48 Std. und weniger den Griffel durchwachsen haben. Verff. sind der Ansicht, daß in vielen Fällen bei günstiger Witterung zur Zeit der Blüte Bespritzen oder Bestäuben während der Blüte ohne Einfluß auf den Ertrag ist, daß aber bei ungünstiger Witterung Bespritzen oder Bestäuben während der Blüte sich ungünstig auf den Ertrag auswirken kann.
Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch physikalische, chemische und physiologische Einflüsse.

Cotton, A. D., Disappearance of Zostera marina. (Nature. Vol. 132. 1933. p. 277.)

Duncan, F. M., Disappearance of Zostera marina. (Ebenda. p. 483.)

In der ersten dieser Mitteilungen werden die Berichte über das an amerikanischen und europäischen Küsten in den letzten 3 Jahren vielfach eingetretene Verschwinden des Seegrases (Zostera marina) zusammengefaßt. Es handelt sich um die Ostküste von Nordamerika und die ganze atlantische Küste von Frankreich und Holland, sowie um englische Küsten, während die Mittelmeerküsten nicht betroffen sind. Französische Autoren schreiben die Erscheinung einem pathogenen Bakterium zu, aber amerikanische Untersucher haben nichts dergleichen gefunden. Letztere berichten auch, daß nach der Erinnerung Lebender mehrmals diese Erscheinung eingetreten sei; man weiß nicht, ob das Absterben ein lokales oder weitverbreitetes gewesen ist, doch steht fest, daß es in den früheren Fällen niemals den heutigen Umfang hatte. Außer den wirtschaftlichen Folgen für gewisse Industrien treten andere Nachteile ein; die marine Fauna muß leiden und Schlick- und Sandbänke können sich verlagern.

In der zweiten Mitteilung wird die Vermutung geäußert, daß die Maschinenölrückstände der Schiffe, an die Küsten gespült, das Absterben des Grases verursachen; in einer Nachschrift des Verf.s der ersten Mitteilung

jedoch wird dies widerlegt. Zostera nana ist noch überall häufig und gesund. K. Friederichs.

Laubert, R., Eine „schlechte Angewohnheit" der Douglasien. (Mitt. d. Dtsch. Dendrolog. Ges. Bd. 45. 1933. S. 365.)

Sehr häufig sind an Pseudotsuga taxifolia die Nadeln vieler Triebspitzen bleibend büschelig zusammengebogen, weil sich die aus den Knospenschuppen bestehende Knospenhülle nicht rechtzeitig abgelöst hat. Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Osterwalder, A., Die Blaufleckigkeit unreifer Traubenbeeren. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. Jahrg. 69. 1933. S. 334—338, 4 Abb.)

Die Blaufleckigkeit der Weinbeeren ist eine physiologische Krankheit, die sich in der Schweiz seit Mitte August stellenweise recht unliebsam bemerkbar gemacht hat. Die Erscheinungen haben etwas Ähnlichkeit mit Plasmopara- und Gloeosporiumflecken. Bestimmtes ist über die Entstehungsursachen noch nicht bekannt. Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Böhme, Warum so viel stippige Äpfel? (Praktischer Ratgeber im Obst- und Gartenbau. Jahrg. 48. 1933. S. 620.)

Zum Stippigwerden neigen besonders: Orangenrenette, Blenheim, Baumann, Croncel, Kaiser Wilhelm, Ontario. Bei einem Versuch zeigte sich, daß stark beschnittene und gelichtete Bäume keine stippigen Früchte bekommen, während die nicht beschnittenen Bäume 15 bis 20% stippige Früchte hervorbrachten. Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Kaden, O. F., 1. Beobachtungen über die Hexenbesenkrankheit der Kakaobäume in Trinidad und Surinam. (Gordian. H. 903. 1932. S. 20—21.) — 2. Untersuchungsergebnisse über nichtparasitäre Kakaokrankheiten in San Tomé und Principe. (Tropenpflanzer. Bd. 36. 1933. S. 321—340.)

Die seit 1895 in Surinam bekannte Hexenbesenkrankheit (witch broom-disease, krullotenziekte) tritt seit 1922 in Ecuador und seit 1928 in Trinidad auf. Verf. schildert ihre Bedeutung für den Kakaobau in Trinidad und die bisherige Bekämpfung. Der Erreger, Marasmius perniciosus ist besonders durch die Arbeiten von G. Stahel erforscht, die Bekämpfung mit Kupferbrühen oder Schwefel und durch Ausschneiden der kranken Stellen hat aber noch zu keinem durchgreifenden Erfolg geführt. Daher wird auf eine Angabe Van Halls aufmerksam gemacht, nach welcher resistente Varietäten in Ecuador vorkommen sollen, und die Möglichkeit erwogen, wirksamere Spritzbrühen ausfindig zu machen. Bei neuem Auftreten ist rücksichtslose Ausrottung der Infektionsherde anzuraten.

Aus San Tomé und Principe beschreibt Verf. eine Anzahl nichtparasitärer Krankheiten. Die wichtigste davon ist die Kakaostarre (morte subita), die zuerst 1921—1925 sehr stark auftrat, so daß ihr Hunderttausende von Kakaobäumen zum Opfer fielen. Die Blätter werden bei dieser Krankheit plötzlich schlaff und gelb und nach 2 bis 3 Tagen sind die Bäume in der Regel tot. Erholung von der Krankheit ist selten und der Erfolg der

Bekämpfung, die in starkem Zurückschneiden und Begießen des Bodens mit Eisensulfat beruht, unsicher. Die Ursache der Krankheit sind extreme Witterungsschwankungen, insbesondere kalte Nächte und trockene Winde, und Ernährungsstörungen auf kalkarmen Böden.

Als Gelbfrüchtigkeit (mela) wird das Welken unreifer Kakaofrüchte bezeichnet, das ebenfalls in neuerer Zeit in gefährlichem Ausmaße auftritt. Seine Ursachen stimmen im wesentlichen mit denen der Starre überein, doch spielen die Bodenverhältnisse dabei eine geringere Rolle.

Als weitere nichtparasitäre Krankheiten von geringerer Bedeutung werden noch Frühreife, Steinfrüchtigkeit, Zwergwuchs und Kakaowelke kurz beschrieben. Zur Bekämpfung und Vorbeugung aller dieser Krankheiten werden Kulturmaßnahmen empfohlen, die in Aufforstung und Windschutz, Bodenverbesserung, Kalkung und Resistenzzüchtung bestehen. Verf. glaubt aber, daß große Teile der Inseln zu dauernder Kakaokultur nicht mehr geeignet sind. Morstatt (Berlin-Dahlem).

Narasimhan, M. J., Black rot of coffee in Mysore. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 875—886, 5 figs.)

Corticium koleroga, der Erreger der Schwarzfäule an Kaffee in Mysore hat zwei verschiedene Entwicklungsstadien; im ersten zeigt sich ein gleichmäßiger weißer Belag auf der Blattunterseite, im späteren Sklerotien. Bei der Keimung der Basidiosporen wurden Anastomosen der Hyphen beobachtet. Eindringen des Pilzes in das Blatt durch die Stomata erfolgt nur während des Sklerotium-Stadiums. Die Schwarzfärbung der Blätter ist auf Ausscheiden von Oxydasen in das Blattgewebe durch den Pilz zurückzuführen.
Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Helm, A., Der Sellerieschorf, Phoma apiicola Klebahn. (Obst- u. Gemüsebau. Jahrg. 79. 1933. S. 137, m. 1 Abb.)

Zur Bekämpfung des Sellerieschorfes empfiehlt Verf. statt des Klebahnschen Verfahrens Samenbeize mit Uspulun und zur Desinfektion der Anzuchtbeete Formaldehydlösung. Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Sommer, H., Kalimangel und Sellerie-Blattfleckenkrankheit. (Gartenwelt. 37. 1933. S. 604.)

Bei der Selleriesorte Saxa blieben die Pflanzen, die die übliche Volldüngung erhalten hatten, vollkommen gesund, während die gleiche Sorte ebenso, jedoch ohne Kali, gedüngt stark von Septoria apii befallen wurde. Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Lüstner, G., Die Weißfleckenkrankheit der Birnenblätter. (Geisenheimer Mitt. über Obst- u. Gartenbau. Jahrg. 48. 1933. S. 197—199, m. 1 Abb.)

In der Umgegend von Geisenheim trat die durch Septoria piricola (Mycosphaerella sentina) verursachte Krankheit der Birnbäume 1933 in noch nie beobachteter Stärke auf, so daß z. B. Clairgeau, Olivier de Serres, Diels Butterbirne, Williams Christbirne bereits Mitte August die meisten Blätter eingebüßt hatten.
Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Knoll, W., Eine Beobachtung in bezug auf die Ulmenkrankheit. (Gartenwelt. 37. 1933. S. 627, 1 Abb.)

Während geschützt stehende Ulmen meist gesund blieben, gingen solche, die Ostwinden ausgesetzt waren, sämtlich ein. Verf. nimmt an, daß Frostschäden des Winters 1928/29 die Bäume besonders empfänglich für den Ulmenpilz (Graphium) gemacht hätten. Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Laubert, R., Ein gefährlicher Tomatenschädling. (Dtsch. Land-Ztg. Jahrg. 1933. S. 844, m. 2 Abb.)

Krankheitsbild, Entstehung und Bekämpfung der durch Didymella lycopersici verursachten Tomatenkrankheit, nach den neuesten Forschungsergebnissen dargestellt. Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Sommer, H., Rostkrankheit an Bartnelken. (Gartenwelt. 37. 1933. S. 454.)

Dianthus barbatus, auch D. chinensis, werden im Herbst oft stark von Puccinia arenariae heimgesucht. Feder- und Chabaud-Nelken bleiben verschont. Durch planmäßige Pflanzenfolge ist das Einnisten des Schädlings möglichst zu verhindern. Sämtliche kranke Blätter abschneiden und verbrennen. Wiederholt mit Kupferkalk- oder Kupfersodabrühe bespritzen, auch gute Bodendesinfektion mit 1 proz. Formaldehydlösung, etwa 5 l je qm. Ferner ist eine Volldüngung anzuraten und einseitige Stickstoffdüngung zu vermeiden.

Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Gante, Th., Der Erikenrost. (Blumen- u. Pflanzenbau. Jahrg. 48. 1933. S. 137.)

Zur Bekämpfung von Uredo ericae, die vor allem Erica gracilis und E. hiemalis zuweilen heimsucht, empfiehlt Verf. vorbeugendes Bespritzen mit Kupfersodabrühe. Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Laubert, R., Beobachtungen und Fragen über die Biologie des Mahonienrostes. (Mitt. d. Dtsch. Dendrolog. Ges. Bd. 45. 1933. S. 273—275, m. 2 Abb.)

Die neuen Uredopolster von Uropyxis sanguinea erscheinen auf den Blättern der Jahrestriebe bereits im Juli, vereinzelt schon früher. Sie bleiben bis ins nächste Jahr am Leben. Die Ächidien entwickeln sich im Juni auf den jungen Blättern, zuweilen auch an den Beeren, sind jedoch selten und leicht übersehbar. Die Ächidiosporen sind besonders durch ihre gleichmäßig dünne Membran von denen von Puccinia graminis, die gleichfalls auf Mahonien vorkommt, deutlich verschieden.

Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Hayes, H. K., Johnson, I. J., and Stakman, E. C., Reaction of maize seedlings to Gibberella saubinetii. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 905—911.)

Die Anfälligkeit von Maissämlingen gegen Gibberella saubinetii wurde durch Infektion des Samens mit einer Reinkultur und Aussaat im Gewächshaus bei einer Temperatur von etwa 15° C ermittelt. Die Wiederholungen mit Samen aus demselben Kolben ergaben so gleichmäßige Werte, daß die Methode als geeignet für die Feststellung der Anfälligkeit oder Resistenz erschien. Bei der Prüfung von Kreuzungen aus verschiedenen Jahren zeigten sich so geringe Unterschiede, daß die Methode hier nicht brauchbar ist. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Laubert, R., Mehltau und Rhytisma auf Acer negundo. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. 13. 1933. S. 94.)

2 für Deutschland neue Pilzkrankheiten von Acer negundo: ein Oidium an den Blättern der Triebspitzen, ohne Perithecien, daher verwandtschaftliche Zugehörigkeit zweifelhaft, und Flecke durch Rhytisma acerinum, das offensichtlich von stark befallenen benachbarten Acer platanoides auf Acer negundo übergegangen ist. Fundort Kaputh-Geltow a. Havel, Sommer 1933.

Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Kamat, M. N., Observations on Tolyposporium filiferum, cause of „long smut" of sorghum. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 985—992, 4 figs.)

Tolyposporium filiferum an Sorghum-Hirse richtet manchmal beträchtlichen Schaden in Indien an. In den Vereinigten Staaten wurde der Pilz bis jetzt nicht beobachtet. Die Chlamydosporen keimen auf den verschiedensten Nährböden innerhalb eines weiten Temperaturbereiches. In Wasser und in flüssigen Nährlösungen wurden typische Promyzelien gebildet, während auf festen Nährböden ein Keimschlauch wächst, der sich verzweigt und Konidien in Ketten oder Büscheln ausbildet. Etwa 100 Einsporkulturen wurden näher untersucht. Die meisten verhielten sich gleich. Keilförmige Sektoren wurden häufig auf einigen Nährböden beobachtet. Das Temperaturoptimum lag für alle Kulturen zwischen 28 und 36° C.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Folsom, D., Botrytis cinerea as a cause of potato tuber rot. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 993—999, 2 figs.)

Botrytis cinerea isoliert von einer neuen Art von Knollenfäule bei Kartoffeln rief bei Infektionen von Knollen unter bestimmten Bedingungen dieselbe Fäule, unter anderen dagegen charakteristische oberflächliche Flecken hervor. Ähnliche Ergebnisse hatten Infektionen mit Kulturen des Pilzes aus naßfaulen Knollen und von Flecken von Stengeln und Blättern. Infektionen mit Myzel waren erfolgreicher als solche mit Sporen. Verf. nimmt an, daß die Infektion der Knollen von befallenen Blättern und Stengeln aus durch die Stolonen erfolgt.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Kendrick, J. B., Seedling stem blight of field beans by Rhizoctonia bataticola at high temperatures. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 949—963, 5 figs.)

Die durch Rhizoctonia bataticola verursachte Krankheit an „Red Mexican-, Red Kidney- und Pink"-Bohnensämlingen äußert sich in schwarzen, manchmal eingesunkenen Flecken auf dem Hypokotyl. Sofern die Pflanzen nicht als Sämlinge absterben, brechen sie meistens später an der Stelle, an der früher durch den Befall der Stengel geschwächt wurde. Die Infektion erfolgt bevor oder bald nachdem der Sämling aus dem Boden kommt. Rhizoctonia bataticola konnte aus kranken Pflanzen isoliert werden. Pykniden wurden nicht gefunden. Die Krankheit trat besonders stark in den Jahren 1929, 1931 und 1932 auf. In diesen Jahren herrschten während des Auflaufs 10 Tage und länger Temperaturen von 27—38° C. 1930 wurden während der Zeit solche hohen Temperaturen nicht beobachtet. Sämlinge, die in vorher sterilisiertem und dann infiziertem Boden wuchsen, zeigten in 2 Serien im Juni und Juli die Krankheit, wenn die tägliche Bodentemperatur in etwa 2,5 cm Tiefe 35—45° C bzw. 36,7

bis 41,7° C und in 4,5 cm Tiefe 27,2—35 bzw. 27,8—31,7° C betrug, dagegen nicht bei 2 Serien im September und Oktober bei Temperaturen von 23,3 bis 27,8 bzw. 22,2—26,7 und 20,6—24,4 bzw. 20,6—25° C.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Lachmund, H. G., Resistance of the current season's shoots of Pinus monticola to infection by Cronartium ribicola. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 917—922, 1 figs.)

Die Infektion mit Cronartium ribicola erfolgt bei Pinus monticola zu 10% durch Nadeln desselben Jahres, zu 53% durch die ein Jahr älteren, zu 31% durch die zwei Jahre älteren und zu 5% durch die drei Jahre älteren. Die Infektion durch noch ältere Nadeln ist nur gering.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Remsberg, R., and Hungerford, C. W., Certain Sclerotium diseases of grains and grasses. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 863—874, 4 figs.)

Nach der Sehneeschmelze zeigt sich oft an Weizen, aber auch an anderen Gramineen, eine Krankheit, die ein völliges oder teilweises Absterben der Pflanzen zur Folge hat. Oft sind die Blätter, Stengel und andere befallene Teile mit Sklerotien besetzt. Die Krankheit tritt besonders an niedrig gelegenen feuchten Stellen und dort, wo der Schnee im Frühjahr lange liegen bleibt, auf. In manchen Fällen wurde der Ertrag um 75% herabgesetzt. Verff. isolierten 14 verschiedene Pilze, die sie nach ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften in 4 Gruppen einteilen. Eine von diesen stimmte im Wachstum mit einer Kultur von Typhula gramineum überein. Das Perfekt-Stadium konnte noch nicht erhalten werden. Die Krankheit kann am besten durch späte Aussaat und Verwendung von resistenten Sorten bekämpft werden. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Bremer, H., Die Mehlkrankheit der Zwiebeln (Sclerotium cepivorum Berk.). (Nachrichtenbl. f. d. Deutsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 37—38; 3 Abb.)

In Mitteldeutschland tritt nicht selten eine Krankheit auf, die in verschiedenen Ländern beschrieben ist, in Deutschland jedoch bisher nicht. Sie äußert sich darin, daß im Sommer vereinzelt, zuweilen nesterweise zerstreut Pflanzen welken. Beim Herausnehmen aus der Erde, das leicht möglich ist, zeigt sich, daß die Wurzeln zerstört sind. Man sieht außerdem ein sich von unten her an der Zwiebel hochziehendes mehlähnliches weißes Pilzgeflecht. Im Pilzgewebe können zahlreiche kugelrunde schwarze Körnchen beobachtet werden. Bei dem Erreger handelt es sich zweifellos um Sclerotium cepivorum Berkeley. Als deutsche Bezeichnung wird „Mehlkrankheit" vorgeschlagen. Die Krankheit gehört in Deutschland bisher noch nicht zu den Seuchen. Die Möglichkeit gefährlichen Auftretens ist dort gegeben, wo die Zwiebel oft in der Fruchtfolge erscheint. Erfahrungen über die Bekämpfung liegen noch nicht vor.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Klinkowski, M. und Richter, H., Der Stengelbrenner (Anthraknose) der Luzerne, verursacht durch den Pilz Colletotrichum trifolii. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 14. 1934. S. 1—3, 3 Abb.)

Verff. berichten über das Auftreten von Colletotrichum tri-

folii an Luzerne auf dem Versuchsfelde der Biologischen Reichsanstalt in Berlin-Dahlem. Die Krankheit wurde eingehend von verschiedenen Forschern in den Vereinigten Staaten untersucht. Wirksame Bekämpfungsmethoden sind jedoch auch dort noch nicht gefunden worden. An der Landwirtschaftlichen Versuchsstation des Staates Mississippi sind aus der Kapluzerne, der Cossack- und der Grimmluzerne Formenkreise ausgelesen worden, die einen erhöhten Resistenzgrad aufweisen. In Deutschland wurde bisher nur ein Fall eines isolierten Vorkommens beobachtet.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Curzi, M., La maladie de l'encre sur le noyer (Juglans regia). (Soc. Intern. di Microbiol. — Boll. della Sezione Ital. Vol. 5. 1933. p. 341—344.)

Als Ursache einer in verschiedenen Ländern verheerend auftretenden Schwarzfäule in Kulturen von Juglans regia wurde ein pilzlicher Parasit festgestellt, der auch eine ähnliche Krankheit an den Früchten von Castanea vesca hervorruft, nämlich Phytophthora cambivora. Verf. vermutet, daß dieser Parasit sehr viel weiter verbreitet ist als vielfach angenommen wird. Gewisse Schwierigkeiten bei der Reinzüchtung aus dem erkrankten Gewebe der Nuß scheinen seine Auffindung in derselben bisher verhindert zu haben. Bortels (Berlin-Dahlem).

Brucker, K., Der Wurzelkropf. (Geisenheimer Mitt. über Obst- u. Gartenbau. 49. 1934. S. 5—9, m. 5 Abb.)

Bei der Besprechung der erheblichen Schäden, die durch den Wurzelkropf (Bacterium tumefaciens) zuweilen an Obstbäumen angerichtet werden — gelegentlich gehen 80 und mehr Prozent der aufgeschulten Obstbaumwildlinge daran zugrunde —, wird auf die gleichfalls schweren Schädigungen hingewiesen, die neuerdings ziemlich häufig in Himbeeranlagen auftreten. Mitunter werden auch Schwarzwurzeln heimgesucht.

Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Bryan, Mary K., Bacterial speck of tomatoes. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 897—904, 3 figs.)

Die von Verf.n beschriebene in Florida und Maryland beobachtete Tomatenkrankheit äußert sich in kleinen, runden, schwarzen Flecken auf den Früchten. Stengel und Blätter werden auch befallen. Die Krankheit wurde früher mit der durch Bacterium vesicatorium verursachten verwechselt. Als Erreger wird Bacterium punctulans n. sp. beschrieben. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Quanjer, H. M., Über eine komplexe Viruskrankheit des Tabaks. (Phytopath. Ztschr. Bd. 6. 1933. S. 325.)

Durch synthetische Infektion mit dem Virus des gewöhnlichen, „klassischen", Tabakmosaiks und dem in Kartoffeln verbreiteten Akronekrosevirus wurde am Tabak (Amersforter Varietät) eine durch Strichelnekrose an Stengel und Blättern gekennzeichnete Krankheit erzeugt, auf die die Beschreibung paßt, die Schaffnit und Müller seinerzeit von einer Tabakkrankheit gegeben hatten. Somit konnte bewiesen werden, daß es sich um eine komplexe Viruskrankheit handelt. Die eine Komponente, das Akronekrose-Virus, dürfte mit dem „latent virus" von Burnett und Jones (N.-Amerika), dem „healthy potato virus" von E. M. Johnson (N.-Amerika) und dem X-Virus von K. M. Smith (England) identisch

sein. Die kleinen, zwischen den verschiedenen Herkünften dieses Virus bestehenden Verschiedenheiten sind möglicherweise auf Beimengung von anderen Virusarten zurückzuführen. Der gleiche Viruskomplex erzeugt übrigens an Tomaten eine ähnliche Krankheit, worüber Quanjer und Silberschmidt früher (Phytop. Ztschr. Bd. 5. 1932. S. 75) berichtet hatten. E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Jensen, J. H., Isolation of yellow-mosaic viruses from plants infected with tobacco mosaic. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 964—974, 2 figs.)

Kleine glänzende gelbe Flecken, die das „Gelbmosaikvirus" enthielten, zeigten sich gelegentlich auf den Blättern von Nicotiana tabacum, N. sylvestris und Lycopersicon esculentum, die mit Tabakmosaik infiziert waren. Ähnliche Flecke wurden beobachtet, wenn Pflanzen, die gegen zufällige Infektion geschützt und frei von anderen Viren waren, mit Tabakmosaikvirus infiziert wurden. Bei Infektionen mit 26 Isolationen vom Gelbmosaikvirus traten 3 verschiedene Symptome auf. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Duggar, B. M., and **Johnson, B.,** Stomatal infection with the virus of typical tobacco mosaic. (Phytopath. Vol. 23. 1933. p. 934.

Schon Allard hatte die Beobachtung gemacht, daß es möglich ist, Tabakpflanzen dadurch mit dem gewöhnlichen, hochinfektiösen Tabakmosaik zu infizieren, daß man sie mit dem Gewebesaft von mosaikkranken Pflanzen bespritzt. Verff. gelang nun neuerdings die Infektion in einer sehr großen Zahl von Fällen, indem sie die Sprosse (die Wurzeln waren durch eine Korklage geschützt) mittels eines feinen Verstäubers mit dem mit Wasser auf 1 : 10 verdünnten Gewebesaft allseitig bebrausten. Sie versuchten dann die Frage zu prüfen, ob bei der „unverletzten" Pflanze der Eintritt der Spritzflüssigkeit in die Spaltöffnungen als eine Voraussetzung der Infektion anzusehen ist. Der Nachweis einer hohen Korrelation zwischen dem Geöffnetsein oder Geschlossensein der Spaltöffnungen und der Infektionshäufigkeit scheiterte jedoch daran, daß unter den verschiedensten geprüften Außenbedingungen zu keiner Zeit alle Stomata eines Blattes geschlossen waren. Immerhin wurde eine geringe Korrelation festgestellt zwischen Infektionsprozent und Öffnungsgrad, und Verff. halten es für sehr wahrscheinlich, daß das Eindringen in die Pflanze in der Tat durch die Spaltöffnungen vor sich geht. E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Oortwijn Botjes, J. G., Verzwakking van het Virus der Topnecrose en verworven Immuniteit van Aardappelrassen ten opzichte van dit Virus. [Abschwächung des „Topnecrose" Virus und erworbene Immunität von Kartoffelsorten in bezug auf dieses Virus.] (Tijdschr. o. Plantenz. Heft 10. 1933. S. 249—260, m. 1 Taf.)

„Topnecrose" (Acronecrose) - Virus, in Amerika „healthy potato virus" genannt, kommt vor in anscheinend gesunden Knollen von „Eersteling" und einigen anderen Kartoffelsorten. Überimpfung auf Tabak verursacht „mottle" Krankheit oder „Ringspot". In „Zeeuwsche Blauwe" übergeführt, verursacht es eine Art Mosaik und bleibt virulent, in „Bravo" und anderen

Sorten verursacht es „Topnecrose", jedoch tritt manchmal während des Wachstums eine Besserung ein. Dieses ist immer der Fall mit dem Nachwuchs, wobei die mehr oder weniger hergestellte Pflanze zum größten Teil für eine weitere Impfung mit dem Virus immun geworden ist. In „Bloemgraafjes" ist die Wirkung noch verstärkt, der Nachwuchs zeigt hauptsächlich Mosaik, daneben etwas Nekrose und besitzt ein Virus, welches nicht imstande ist, „Bravo" zu infizieren, wohl aber wiederum „Bloemgraafjes" selbst. Überlegungen verschiedener Art machen aber die Annahme unwahrscheinlich, es handle sich hier um ein aus mehreren Komponenten zusammengesetztes Virus. Vielmehr muß angenommen werden, die Virulenz zeige eine Abschwächung, welche am meisten in der Sorte vorgeschritten ist, die ursprünglich am stärksten reagierte (Bloemgraafjes, etwas weniger in „Bravo"). Die Abschwächung fehle aber in den Sorten, die nur mit Mosaik reagieren („Zeeuwsche Blauwe") oder sich immun zeigen (Eersteling, u. a.). van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Condil, I. J., and **Horne, W. T.,** A mosaic of the fig in California. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 887—896, 4 fig.)

Die bisher für Kalifornien noch nicht beschriebene Mosaikkrankheit der Feige ist zwar in allen Feigenanbaugebieten Kaliforniens verbreitet, doch ist der durch sie verursachte Schaden noch nicht bedeutend. Nach den bisherigen Beobachtungen sind die Sorten verschieden anfällig. Ob die Krankheit durch Insekten übertragen wird, konnte noch nicht festgestellt werden. Stecklinge aus Samen von kranken Bäumen blieben gesund. Reiser von anscheinend gesunden Sämlingen auf Unterlagen an kranken Bäumen gesetzt, zeigten die Mosaikkrankheit.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Tierische Schädlinge.

Austin, M. D., and **Jary, S. G.,** Investigations on the Insect and allied pests of cultivated mushrooms. I. Sciara fenestralis Zell. (Journ. South-East. Agric. Coll. Wye. 1933 7. p. 59—62, 3 fig.)

Die Maden der Fliege Sciara fenestralis beschädigen Champignonkulturen. Die Eier werden einzeln oder zu mehreren auf die Oberfläche des Mistes gelegt und die Maden schlüpfen schon nach einigen Tagen aus. Sie wandern zu den jungen Fruchtkörpern hin und bohren darin. Nach 2—3 Wochen verpuppen sie sich in der Erde in einem Kokon oder auch ohne solchen, und 1—2 Wochen später ist die Mücke fertig. So können während einer Vegetationsperiode der Champignons bis zu 4 Generationen einander überschneiden. Die Maden fressen auch am Myzel; sie scharen sich bei Trockenheit in Haufen zusammen, wodurch die Gefahr der Austrocknung sich für sie vermindern mag.

Die Mücken machen nur kurze, sprungartige Flüge. Man kann sie sehr vermindern durch Klebpapier, das auf den Boden gelegt oder aufgehängt wird, auch durch Verflüchtigung von Nikotin, oder man fügt mehrmals dem zum Begießen dienenden Wasser 95—98proz. Nikotin bei: etwa 285 g in 450 l Wasser (10 Unzen in 100 Gallonen). Man kann sich davon keine unmittelbare Wirkung, aber die Verhütung ernsthaften Schadens versprechen. Seife würde den Pilzen schaden. K. Friederichs.

Laubert, R., Schildlausschäden an Juniperus Pfitzeriana. (Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. 14. 1934. S. 29, m. 1 Abb.)

Juniperus chinensis L. var. Pfitzeriana, sowie Juniperus prostrata Pers. zeigten in Berlin-Dahlem erhebliche Schädigungen durch Diaspis visci (Schr.) Löw. Die befallenen Zweige waren auffallend verkrümmt und gelblich verfärbt.

Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Nikolskaja, M. N., The Clover Seed Chalcid (Bruchophagus gibbus Boh.) in Alfalfa seeds in U.S.S.R. (Plant Protect. 1932. p. 107—111, 3 fig.) [Russisch m. engl. Zusfassg.]

Luzernesaat bei Poltawa war 1929 zu 3—25% von der Chalcidide Bruchophagus gibbus infiziert. Die Schlupfwespe wird beschrieben und ihre Lebensgeschichte in Europa und den U.S.A. verglichen. Sie ist daselbst als B. funebris bekannt: ein Synonym von B. gibbus. Diese als Larve körnerfressende Schlupfwespe wird von zahlreichen parasitischen Schlupfwespen dezimiert, insbesondere durch Habrocytus medicaginis und Tetrastichus bruchophagi, daneben durch 3 andere Tetrastichus-Arten, 3 Eupelmus-Arten, je eine der Gattungen Eutelus und Liodontomerus. Zwischen 23,8 und 90% der Bruchophagus-Larven waren parasitiert. K. Friederichs.

Hase, A., Schäden durch Pflaumensägewespen als Beitrag zur Feststellung der Höhe von Insektenschäden sowie Bemerkungen über Statistik in der angewandten Entomologie. (Die Gartenbauwissensch. Bd. 8 1. 1933. S. 115—124).

Die Larve der Pflaumensägewespe (Hoplocampa minuta) zerstört oft mehrere Früchte. Angefressene Früchte, von denen die Larve abgelassen hat, fallen zum Teil Fäulnispilzen zum Opfer, zum Teil heilen sie den Schaden aus. Da die angefressenen Früchte großenteils lebende Larven enthalten, so ist Abpflücken derselben ratsam, damit die Larven nicht noch weitere Früchte angreifen. Verf. berechnete für 4 Bäume eines Gartens den Schaden der Wespe mit 26,50 RM., womit wenigstens die Größenordnung gegeben ist. — Viele Zahlen, sagt Verf., die in den Veröffentlichungen über angewandte Entomologie erscheinen, sind noch nicht so beschaffen, daß von einer exakten Biologie dabei gesprochen werden könnte. Es muß mehr differenziert, es müssen keine sinnlosen Dezimalen berechnet und es müssen überhaupt mehr die Regeln der Statistik beachtet werden.

K. Friederichs.

Nitsche, G. und Langenbuch, R., Der Kohltriebrüßler (Ceutorrhynchus quadridens Panz.) als Großschädling im Kohlanbau. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 13. 1933. S. 101—103.)

In den Jahren 1932 und 1933 traten im Kohlanbau verschiedentlich Schädigungen durch den Kohltriebrüßler auf, dessen Larven in den oberirdischen Teilen der Pflanzen, namentlich in den Mittelrippen und Stielen der Blätter leben. Die Einwanderung erfolgt hauptsächlich schon im Anzuchtbeet, so daß die später erkrankenden Pflanzen bereits beim Auspflanzen befallen sind. Die Larven erreichen in 5—6 Wochen eine Größe von 8 mm und verlassen dann die Wirtspflanze durch eine stets über der Erdober-

fläche liegende Öffnung, um sich im Boden zu verpuppen. Nach weiteren 3—4 Wochen verläßt ein Teil der Käfer die Puppenhülle; der größere Teil scheint erst im nächsten Jahr auszuschlüpfen. Die Bekämpfung mit chemischen Mitteln kann sich nur gegen die Käfer richten. Entsprechende Versuche sind bereits eingeleitet worden.

Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Mail, G. A., and Salt, R. W., Temperature as a possible limiting factor in the northern spread of the Colorado Potato Beetle. (Journ. econom. Entom. Vol. 26 6. 1933 12. p. 1068—1075.)

Der Kartoffelkäfer kann — 4° C ertragen; bei weiter fallender Temperatur sterben mehr und mehr von ihnen, bei — 12° 100%. Es kommt natürlich sehr darauf an, wie tief die Kälte in den Boden eindringt, wie tief der Käfer überwintert und ob sich eine schützende Schneedecke über den Boden legt oder nicht. Bei Beaverlodge im Norden der U.S.A., wo in 3 aufeinanderfolgenden Jahren das Minimum der Bodentemperatur 10,6, 11,1, 11,1 war, fehlt der Käfer. Dies kann aber nicht auf die Bodenkälte als Grund zurückgeführt werden, solange man nicht recht weiß, in welchen Tiefen der Käfer überwintert. K. Friederichs.

Hempelmann, Massenhaftes Auftreten des Erbsenblattrandkäfers und seine Bekämpfung. (Deutsch. Landwirtsch. Presse. Jahrg. 60. 1933. S. 445.)

Da die Bekämpfung der Blattrandkäfer im vorliegenden Falle mit Fraßgiften nicht möglich war, wurde ein Graben aufgeworfen und dieser mit Ätzkalk ausgelegt. Infolge des feinen Staubes war es den Käfern nicht möglich, auch nur kleine Erhöhungen zu übersteigen. Der Zustrom der Käfer hielt gut 10 Tage an. Zur Vernichtung der ungeheuren Käfermengen mußte der Graben mit der Lötlampe einmal ausgebrannt werden.

Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Laubert, R., Eine nicht alltägliche Schädigung der Rosen. (Rosen-Ztg. Jahrg. 48. 1933. S. 101—103, m. 4 Abb.)

Unter Beifügung von Abbildungen wird auf Zweiganschwellungen hingewiesen, die neuerdings in Böhmen stark schädigend an kultivierten Rosa rugosa aufgetreten sind. Als Erreger wurde Agrilus chrysodores f. obtusus ermittelt, der in Deutschland bisher nur 2 mal beobachtet worden ist. Laubert (Mülheim a. Ruhr).

Steiner, G., and Buhrer, Edna M., The bulbous Irises as Hosts of Tylenchus dipsaci, the Bulb or Stem Nema. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 103—105.)

Verff. berichten über die an Iris xiphium L., I. xiphium hybridum, I. xiphioides Ehrb. und I. tingitana Boiss. und Reut. auftretenden, durch Stockälchen hervorgerufene Krankheitserscheinungen. Im Gegensatz zu einer ähnlichen Erkrankung bei Narzissen- und Hyazinthen-Knollen, die die ersten Symptome am Knollenhals zeigen, macht sich bei Iris die Krankheit an der Oberfläche durch gelbe Flecken oder Streifen geltend. Später werden die Knollen braun, dann bleigrau; schließlich sinkt das Gewebe ein und wird schwammig. Die Blätter befallener Pflanzen bleiben im Wuchs zurück. Nematoden finden sich aber selten in ihnen. Übertragungsversuche von Iris auf Narzissen und Zwiebeln

mißlangen. Zur Bekämpfung dürfte sich die Heißwasserbehandlung empfehlen, die auch bei Narzissenknollen wirksam ist.

Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Godfrey, G. H., and Hoshino, Helene Morita, Studies on certain environmental relations of the root-knot nematode, Heterodera radicicola. (Phytopathology. Vol. 23. 1933. p. 41—62.)

In der vorliegenden Arbeit berichten Verff. über den Einfluß verschiedener Feuchtigkeitsgrade und Lichtstrahlen auf die Lebensfähigkeit von Eiern und Larven der Heterodera radicicola. So betrug die Lebensdauer der Larven bei 50% Feuchtigkeit 3½ Min., bei 90% Feuchtigkeit 25 Min. Eier überdauerten in Klumpen die Trockenheit um ½mal länger als einzelne Eier; in Wurzeln hielten sie sich noch weit länger. Völlige Trockenheit ließ die Larven in 2½ Min., Eier in 52½ Min. bzw. in 105 Min. zugrundegehen. Sonnenlicht tötet Larven im Wassertropfen in 22½ Min., ohne daß die Temperatur den letalen Punkt erreichte. Noch stärker wirkten die ultravioletten Strahlen einer Quecksilberdampflampe, die mit steigender Intensität die Lebensdauer der Larven und Eier abkürzten.

Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Betrem, J. G., Orienteerende proeven met blauzuurgas tegen Witte Luis en Takkenboeboek. (Arch. Koffiecultuur i. Ned.-Indië. Jaarg. 7 2. 1933 12. p. 84—101.) [Holl. m. engl. Zusfssg.]

Es sollte durch Versuche festgestellt werden, ob man Kaffeebäume durch Blausäuredämpfe unter einem Zelt von Läusen völlig befreien könnte, ohne daß der Fruchtansatz darunter leidet; dann könnte daraus ein Schluß auf den Grad der Schädlichkeit der Läuse gezogen werden. Eine Dosis Cyanamid von 27 g je cbm genügte, alle Lecanium viride und etwa 90% der weißen Läuse (Pseudococcus citri und Ferrissiana virgata) abzutöten, ohne daß der Baum litt. Doch bedürfen die Versuche der Wiederholung, weil die Läuse nicht stark auftraten. Gegen Borkenkäfer in den Zweigen war die Behandlung praktisch wirkungslos.

K. Friederichs.

Webster, R. L., Insect tolerance. (Journ. econom. Entomology. Vol. 26 6. 1933 12. p. 1016—1021.)

Nachdem sich bereits bezüglich verschiedener Schildläuse herausgestellt hat, daß sich bei ihnen allmählich eine beträchtliche Widerstandsfähigkeit gegen Insecticide herausbildet, stellt sich mehr und mehr auch dasselbe für den Apfelwickler in Nordamerika heraus. „Häufigere Anwendung des Spritzens, zunehmende Materialmenge dabei und eine größere Menge Spritzflüssigkeit je Baum — das ist die Geschichte der Bekämpfung des Apfelwicklers im Nordwesten der Pazifischen Küste.“ Besonders schwierig erwies sich der Kampf in Grand Valley in Colorado. Verf. nimmt bezug auf vergleichende Versuche im Labor, ausgeführt von W. S. Hough, mit Apfelmaden von verschiedener Herkunft, welche ergaben, daß bei der gleichen Giftmenge auf den Äpfeln nur 15,5% der Maden in Virginia einzudringen vermochten, dagegen 33,2% von Washington und 51,5% von Colorado! Man vermißt in diesem Zitat Angaben darüber, wo die Bekämpfung am längsten angewendet wird. Neue Versuche nun mit Apfelmaden von nur einer

Herkunft, 3 Jahre hindurch fortgesetzt, ergaben 1930 ein Abtötungsprozent von 73%, 1931 von 60% und 1932 von 36%. Die Mitteilungen müßten nachdenklich stimmen, wenn daraus alles, was zu erfahren wesentlich ist, ersichtlich wäre. Leider sind die Amerikaner durch die Publikationsbedingungen zu allzu großer Kürze gezwungen. Das mag an der Unvollständigkeit der Darstellung schuld oder mit schuld sein. K. Friederichs.

Subklew, W., Der augenblickliche Stand der Drahtwurmbekämpfung. (Mitt. Dtsch. Landwirtschafts-Gesellsch. Bd. 24. 1933. Sonderdr. 2 S.)

Nach Darstellung der Verhältnisse, welche die Drahtwürmer veranlassen, vom Verzehren von Humus zum Angriff auf lebende Pflanzen überzugehen, wird eine Übersicht über die Möglichkeiten der Bekämpfung gegeben. Ein durchschlagendes Verfahren, das sich im Großbetrieb lohnte, kennen wir nicht. Eine gewisse Bedeutung haben Fangpflanzen und Köder, sowie das Düngen mit Staubkainit oder 40 proz. Kali. Versuche der Biologischen Reichsanstalt haben aber gezeigt, daß Kainit zum mindesten kein zuverlässiges Mittel ist. Kleine, für hochwertige Pflanzen bestimmte Flächen können mit verschiedenen Bodendesinfektionsmitteln von Drahtwürmern befreit werden. Gründliche Bodenbearbeitung ist wichtig. Befallene Felder sollten mit unanfälligen oder widerstandsfähigen Früchten wie Meerrettich, Senf, Buchweizen, in leichteren Fällen auch Leguminosen, Flachs oder Klee bebaut werden. Weiter: Vogelhege, Schonung der Maulwürfe und Kröten; fahrbare Hühnerwagen. Aber keines dieser Mittel ist durchgreifend, billig und zuverlässig. K. Friederichs.

Davidson, J., The distribution of Sminthurus viridis L. (Collembola) in South Australia, based on rainfall, evaporation and temperature. (The Austral. Journ. Biol. and Med. Sci. Vol. 9. 1933. p. 59—66.)

Die geographische Verteilung von S. viridis in Süd-Australien ist von der durchschnittlichen Regenmenge und Verdunstung abhängig. Das Sättigungsdefizit ist derjenige Faktor, der die Verdunstung beeinflußt. In Australien wurde das Verhältnis „Regenmenge : Verdunstung (R/E) = 1 als kritischer Wert angenommen, unter welchem die Trockenheit das Hervorkommen der aktiven Insektenstadien verhindern könnte. Wenn das Verhältnis eins stark überschritten ist, also übermäßige Feuchtigkeit herrscht, besonders bei Durchschnittstemperaturen unter 52° F (11° C), so ist ihre Vermehrung infolge gehemmter Entwicklung und erhöhter Sterblichkeitsziffer sehr beschränkt. Die Monate und diejenigen Areale in Süd-Australien, in welchen die Regenmenge die Verdunstungsgröße überschreitet, sind bestimmt; in ihnen kann man die wahrscheinliche Verteilung von S. viridis voraussagen. Das Verbleiben der Spezies in einem Areal ist von der Anzahl der Monate, in welchen das Verhältnis R/E nicht unter eins fällt, abhängig, ebenso von der durchschnittlichen Temperatur, welche die Vollendung mindestens einer Generation der Insekten erlauben, so daß es noch zur Eiablage kommt, wodurch die Spezies eine nachfolgende Trockenperiode überstehen kann; Dauer und Stärke der Trockenperiode werden das Überleben der Eier bestimmen. Bei günstiger Feuchtigkeit sind Temperatur, Nährpflanzen, Bodentypus und biotische Wettbewerbe wichtige Faktoren, welche die Vermehrung der Insekten beeinflussen.

E. Munch-Petersen (Sydney).

Davidson, J., The environmental factors affecting the development of the eggs of Sminthurus viridis L. (Collembola). (Austral. Journ. Exper. Biol. and Med. Sci. Vol. 11. 1933. p. 9—23.)

Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnisse an der Bodenoberfläche sind zwei der wichtigsten Faktoren, die die Entwicklung und Ausbrütung der Eier von S. viridis beeinflussen. Die Resultate der Untersuchungen von Eiern, die unter verschiedenen Feuchtigkeitsbedingungen ausgebrütet sind, sind dargestellt. Wenn die Feuchtigkeitsbedingungen von dem Optimum abweichen, sei es „zu trocken" oder „zu feucht", dann wird die Entwicklung gehemmt, und die Ausbrütung wird ungleichmäßig. Unter feuchten Bedingungen, speziell bei Temperaturen von 20° C und darüber, ist die Sterblichkeitsziffer hoch; unter günstigen Feuchtigkeitsbedingungen wurden von 488 Eiern bei 25° C 94% ausgebrütet und von 430 Eiern bei 20° C 92%. Die besten Feuchtigkeitsverhältnisse für Entwicklung und Ausbrütung in der Natur sind dann gegeben, wenn zwischen Regenfall und Verdunstung ein günstiges Verhältnis besteht. Bei „The Waite Institut" war das erreicht, wenn der Feuchtigkeitsgehalt der Bodenoberfläche 60—80% der Sättigung entsprach. (Die Sättigungsziffer des Bodens ist auf „nassem Boden" Basis = 24—25% Feuchtigkeit.) Unter 50% Sättigung ist die Entwicklung bedeutend gehemmt, und die Ausbrütung sehr reduziert, unter 40% werden verhältnismäßig wenig Eier ausgebrütet. Ist die Bodenoberfläche gesättigt, so ist die Entwicklung vieler Eier gehemmt, und eine auffallende Vergrößerung der Sterblichkeitsziffer erfolgt. Eine nahe Verwandtschaft existiert zwischen der Wirkung dieser widrigen Bedingungen und der vorherrschenden Temperatur; sie sind strenger bei Temperaturen über ca. 20° C, und bei niedrigen Temperaturen, infolge langsamer Entwicklung. Wenn der Boden austrocknet, sind Entwicklung und Ausbrütung gehemmt, aber gewisse teilweise entwickelte Eier behalten ihre Lebensfähigkeit während der Trockenperiode. Ungepaarte weibliche Insekten legen Eier, die normal aussehen. Von zehn ungepaarten weiblichen Insekten wurden zehn Eierhäufchen mit durchschnittlich 48 Eiern gelegt, aber keins wurde ausgebrütet, da sie wahrscheinlich unfruchtbar waren.

E. Munch-Petersen (Sydney).

Hampp, H., Erdflohbekämpfungsversuche bei Hopfen auf dem Hopfenversuchsgut in Hüll 1927—1932. (Tagesztg. f. Brauerei. Bd. 32. 1934. S. 237.)

Versuchsweise wurden 16 verschiedene Präparate verwendet. Von den Stäubemitteln bewährte sich „Polvo" vorzüglich, ebenso „Ri 26". Von den Spritzmitteln hat sich nur „Dekalit-S" in 2proz. Lösung als sehr wirksam erwiesen, doch ist es zu teuer. Ri 26 ist unangenehm beim Verstäuben, weil es die Schleimhäute stark reizt und Kopfschmerzen verursacht. Ist das Wachstumsstadium der Pflanzen weiter vorgeschritten, dann wird die Bekämpfung der Erdflöhe mit Stäube- und Spritzmitteln äußerst schwierig und auch viel zu teuer. Man verwendet deshalb bei Pflanzen, die eine Höhe von mehr als 2 m erreicht haben, vorteilhaft den Raupenleim der Chemischen Fabrik Ludwig Meyer in Mainz. Heuß (Berlin).

Thompson, F. M., and Worthley, H. N., Field studies with pine oils as destroyers of overwintering Codling Moth larvae. (Journ. econom. Entom. Vol. 26 6. 1933 12. p. 1112—1117.)

Teeröldestillate, auf die Rinde von Apfelbäumen aufgetragen, vernichteten die überwinternden Apfelmaden in erheblichem Maße, besonders wenn die Behandlung auf großer Fläche erfolgte, und die Behandlung wirkte sich dann am stärksten aus, wenn ihr die üblichen Spritzungen während der Vegetationsperiode folgten. K. Friederichs.

Thiem, H., Beitrag zur Epidemiologie und Bekämpfung der Kirschfruchtfliege (Rhagoletis cerasi L.). (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 13. 1933. S. 33—35.)

Lonicera xylosteum wurde 1931 vereinzelt schwach, 1932 häufig, teilweise fast ebenso stark wie L. tartarica, von den Maden der Kirschfruchtfliege befallen. Der unterschiedliche Befall im Jahre 1932 wird auf das verspätete und verzögerte Erscheinen der Fliege und — wenigstens in Mitteldeutschland — auf die gleichzeitige schwache Kirschernte zurückgeführt. Infolge dieses Kirschmangels wurden sämtliche Bestände restlos geerntet. Die inzwischen herangereiften Beeren von L. xylosteum wurden daher auch in erhöhtem Maße belegt. Eine Bekämpfung ist nur möglich, durch Unterbindung einer Massenvermehrung an L. xylosteum, Wildkirschen und besonders an L. tartarica. Dabei muß auch auf ein rechtzeitiges restloses Pflücken der Kirschen geachtet werden. Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Semenow, A. E., On the control of Byturus tomentosus F. (Plant Protect. 1932. p. 83—84. Ref. i. Rev. appl. Ent. Vol. 21. p. 623.) [Russisch.]

Der Himbeerkäfer konnte in Rußland mit Erfolg bekämpft werden, indem man den Rauch einer Imkerpfeife auf Blüten und Blätter blies, worauf die Käfer sich herabfallen lassen und in einem Trichter mit Gazesack aufgefangen werden können. K. Friederichs.

Börner, C., Die Verbreitung der Reblaus in Deutschland nach dem Stande des Jahres 1932. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 13. 1933. S. 59—62.)

Im Jahre 1932 wurde die Reblaus in 85 Gemarkungen des west- und süddeutschen Weinbaugebietes nachgewiesen. Von diesen zählen 28 zu den sog. Aufbau-Gemarkungen, in denen sich die beschleunigte Umstellung des Weinbaues auf Pfropfreben bereits in Durchführung befindet. Von den übrigen 57 Gemarkungen waren 12 erstmalig verseucht (9 in Baden, 3 in Hessen). 2 weitere Gemarkungen (1 in Hessen, 1 in Württemberg), deren Verseuchung seit 40 Jahren als erloschen galt, waren neu verseucht. In 11 neu verseuchten Gemarkungen liegt die letzte Verseuchung nur wenige Jahre zurück. 32 Gemarkungen waren bereits im Jahre 1931 verseucht. Die Gesamtzahl der Reblaus-verseuchten und -verdächtigen Weinbau-Gemarkungen in West- und Süddeutschland (ohne Saargebiet) beträgt 177. Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Knoll, M., Bericht über die Maikäferbekämpfung im Werderschen und Glindower Obstbaugebiet im Jahre 1933. (Nachrichtenblatt f. d. Dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 13. 1933. S. 89—90.)

Eine Maikäferbekämpfung wurde vom 5.—12. Mai 1933 in Werder und Glindow durchgeführt, bei der insgesamt 285 Mann auf 8 Bezirke ver-

teilt waren. Außerdem wurden noch Schulkinder für einzelne Tage herangezogen, die in die bestehenden Kolonnen eingereiht wurden. Jede Kolonne bestand aus 5—6 Mann, deren Arbeitszeit von 4—9 Uhr dauerte. Das Abschütteln der Bäume geschah mit langen Stangen, die mit einem starken eisernen Haken versehen waren. Fangtücher haben sich bei Vorhandensein von Unterkulturen gut bewährt; es ist zweckmäßig, diese aus glattem Stoff herzustellen, damit sich die Käfer nicht festklammern können. Bei Plantagen ohne Unterkulturen geht das Aufsammeln von der Erde schneller. Die Gesamtausgaben für Löhne und Material belaufen sich auf rund 6000 RM. Dem steht die Vernichtung von 181 Ztr. Maikäfer oder schätzungsweise 250 Millionen in den nächsten Jahren schädigend wirkender Engerlinge gegenüber. Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Meyer-Bahlburg, Energischere Bekämpfung von Maikäfer und Engerling. (Deutsch. Landwirtsch. Presse. Jahrg. 60. 1933. S. 217—218 und 228.)

Verf. empfiehlt, sich nicht allein auf das Sammeln der Maikäfer einzustellen, das besonders bei einer größeren Anflugfront nur einen geringen Wert hat und in solchen Fällen die aufgewendete Arbeit kaum lohnt. Er verlangt eine Verringerung der Anflugfronten durch Entfernen von Bruchgehölz, Weidenhecken u. dgl., bzw. ein Einfassen der Laubwälder an den Ackergrenzen mit einem Streifen Nadelholz, besonders Fichten, in einer Breite von wenigstens 50 m. Der Zwang zum Überfliegen dieser Strecke, zumal in erheblicher Höhe, würde die Eiablage erschweren und somit die Schadensgefahr vermindern. Die Möglichkeiten einer natürlichen Schädlingsbekämpfung durch Möwen, Krähen, Eintreiben von Schweinen und Hühnern werden besprochen und ihre Vor- und Nachteile erörtert.

Goffart (Kitzeberg b. Kiel).

Tierkrankheiten. Tierparasiten.

Rasin, K., Coelomyces Chironomi n. sp., ein parasitischer Pilz aus der Leibeshöhle der Chironomus-Larven. I. Teil: Äußere Form und Biologie. (Biologické Spisy Acad. Veterin. T. 8 14. 1929. 13 p., [Tschech. m. dtsch. Zusfassg.]

In der Gegend von Brünn wird in Chironomus-Larven der Plumosusgruppe ein Pilz aus der Gattung Coelomyces gefunden, der eine neue Art ist. Er bildet in der Leibeshöhle der Mückenlarven ein stark verästeltes coenocytisches Mycel. Das Wachstum der jüngsten Stadien, welche einzeln oder zu mehreren den Muskeln nahe der Haut an Segmentgrenzen in Kugel- oder Eiform anliegen, konnte verfolgt werden. Oft füllt das Mycel nachher die ganze Leibeshöhle aus. Die Bildung der Sporangien wird beschrieben. Die ganze Mycelmasse wird dabei auf einmal verbraucht. Die Sporangien werden später in der Leibeshöhle des Wirtes frei. Vom Haemolymphstrom getragen, häufen sie sich im hinteren Körperende an. Die Atmung stockt durch die Verstopfung, die Larve stirbt, und durch ihren Zerfall werden die Sporangien frei. Im Herbst war die Mehrzahl der Larven infiziert. Die Sporangien widerstehen der Austrocknung und dem Frost. Einmal gelang die Aufzucht freier Zoosporen im hängenden Tropfen; sie erinnern in ihrer Bläschenform mit langer Geißel sehr an die Z. der Chytridineen.

K. Friederichs.

Oldham, J. N., On Howardula phyllotretae n. sp., a Nematode parasite of Flea Beetles (Chrysomelidae; Coleoptera) with some observations on its incidence. (Journ. of Helminth. Vol. 11 3. 1933 6. p. 119—136, 3 fig.)

Der Erdflohkäfer Phyllotreta undulata, der Hauptschädling aus dieser Gattung, beherbergt als Parasiten einen Fadenwurm, der als Howardula phyllotretae neu beschrieben wird. Zur Untersuchung wurden die Parasiten in Ringerscher Lösung herauspräpariert. Die Larven dringen von der Vulva in die Leibeshöhle des Käfers ein, wo sie sich von dessen Reservestoffen ernähren. Nach einer Häutung wandern sie in die Ovidukte ein und verlassen den Wirt, vermutlich bei Gelegenheit der Eiablage, um in den Boden einzudringen. Für das Männchen des Käfers ist unbekannt, auf welchem Wege der Wurm es verläßt. Später werden die Würmer wieder in geschlechtsreifem, kaum beweglichen Zustand in dem Käfer gefunden; die Weibchen sind dann mit vielen Embryonen angefüllt. Die Fruchtbarkeit befallener weiblicher Käfer ist herabgesetzt; 8—12% von ihnen wurden in England als parasitiert befunden; in Deutschland ist nach Blunck in gewissen Jahren ein sehr starker Parasitenbefall festgestellt worden. K. Friederichs.

Klein, H. Z., Zur Biologie der amerikanischen Schabe. (Ztschr. wiss. Zool. Bd. 144 1. 1933. S. 102—122.)

Das Intervall (Verf. gebraucht das langatmige Wort Praeovipositionsperiode) dauert je nach der Temperatur des Monats verschieden lange: bei 26—28° C nur 10 Tage, bei unter 20° etwa 6½ Monat. Die Kopula erfolgt in abgewandter Stellung. Der Eikokon am Hinterleib bildet sich im Frühling in 3 Tagen, im Sommer in 1 Tag und nur bei mindestens 20°; er enthält im Durchschnitt 15 Eier. Durchschnittlich produziert das Weibchen 21,5 Kokons, höchstens 46. Die Entwicklung im Ei dauert 1—2 Monate; 37% der Eikokons sterben ab und in den geschlüpften 6—8% der Larven. Während der Entwicklung der Larve, die 12—34 Monate erfordert, starben in den Zuchten des Verf.s 5—10% ab. Es werden 6 Häutungen durchgemacht, die Imago lebt durchschnittlich 12, maximal 21 Monate. Die Lebensdauer von der Ablage des Eies bis zum natürlichen Tod betrug durchschnittlich 3 Jahre. Theoretische Berechnung ergibt eine Vermehrungsmöglichkeit von annähernd 1 : 50 in 1 Generation. Parasiten: die Evaniiden Evania appendigaster und E. punctata und die Eulophide Tetrastichus hagenowi. K. Friederichs.

Markowski, S., Die Eingeweidewürmer der Fische des polnischen Baltikums. (Arch. d'Hydrobiol. et d'Ichthyologie. T. 7. 1933. 58 p., 30 fig.)

Verf. hat die bisher nur spärlichen Berichte über die Helminthenfauna des Baltikums durch systematische Untersuchungen ergänzt. Insgesamt 372 Fische, in der Küstenzone von 2—3 m Tiefe gefangen, zu 26 Arten gehörig, wurden untersucht und dabei 33 verschiedene Eingeweidewürmer gefunden: 8 Trematoden, 13 Cestoden, 6 Nematoden, 6 Acanthocephalen. Von den Fischen waren 38,7% infiziert. Alle gefundenen Wurmarten sind bereits bekannt, aber neue Wirte sind dabei. Die Untersuchungen wurden im Seefischerei-Institut in Gdingen ausgeführt. K. Friederichs.

Kirby, H., Flagellates of the Genus Trichonympha in Termites. (Univ. California Publ. in Zoology. Vol. 37 15. 1932. p. 349—476, 11 pl.)

Eine Monographie der in Termiten lebenden Flagellaten des Genus Trichonympha. Es kommen immer daneben andere Flagellaten vor, jedoch selten mehr als 1 Art von Trichonympha in einer Termitenart, wogegen ein und dieselbe Trichonympha-Art in verschiedenen Termiten-Arten leben kann. Bei vielen der untersuchten Arten fehlt Trichonympha. Die Morphologie wird ausführlich behandelt und auf 11 Tafeln bildlich dargestellt. Alle bekannten Arten werden wieder beschrieben, dazu 6 neue, und es wird eine Bestimmungstabelle gegeben. Die Flagellaten der Termiten, so auch die Arten dieses Genus, beherbergen oft Parasiten, die bei gewissen Arten in keinem Individuum fehlen. Eine parasitische Art ist im Endoplasma aktiv beweglich. Häufig ist Sphaerita in T. agilis, die außerdem einen Parasiten von Bazillengestalt hat.

K. Friederichs.

Pickles, A., Entomological contributions to the study of the Sugarcane-Froghopper. (Trop. Agriculture. Vol. 10 8. 1933 8. p. 222—233.)

Fortsetzung der Untersuchungen über die natürlichen Feinde der Schaumzirpe des Zuckerrohrs in Trinidad, Tomaspis postica, haben ergeben, daß der wichtigste Eiparasit, Anagrus urichi, aus der Familie der Mymariden praktisch wenig Bedeutung hat, weil er sich anscheinend langsamer entwickelt als der Wirt und weil Trockenperioden, denen ein starkes Auftreten der Zirpe zu folgen pflegt, der Schlupfwespe schaden, die in feuchten Jahren allgemein verbreitet zu sein pflegt. Zugänglich sind ihr nur die in Rückständen des Zuckerrohrs abgelegten Eier, nicht die im Boden.

Die Schwebfliege Salpingogaster nigra legt ihre Eier hauptsächlich an den Rändern der Felder ab. Auch diese Art leidet durch trockenes Wetter. Der stärkste der Faktoren, die die Vermehrung der Zirpe einschränken, ist der Pilz Metarrhizium anisopliae. Er braucht aber eine gewisse Feuchtigkeit; hierdurch erklären sich die periodischen Massenvermehrungen der Zirpe nach Trockenheit, die zugleich die Parasiten vermindert. Die Wiederholung alle 4—5 Jahre beruht demnach vermutlich letzten Endes auf einer Wetterperiode. K. Friederichs.

Payne, N., The differential effect of environmental factors upon Microbracon hebetor Say (Hymenoptera: Braconidae) and its host Ephestia kühniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). I. (Biol. Bull. Vol. 65 2. 1933 10. p. 187—205.)

Bei Versuchen, den Einfluß verschiedener Umweltsfaktoren auf Ephestia kühniella im Vergleich zu ihrem Parasiten Microbracon hebetor festzustellen, benutzte Verf. 2 Stämme der Mehlmotte, von denen der eine sich schneller entwickelt als der andere, dagegen nur einen Stamm der Schlupfwespe. Die Temperaturgrenzen, innerhalb deren beide Insektenarten ihre Entwicklung vollenden können, werden angegeben. Die stärkste Vermehrung beider findet bei 27° C statt. Bei Temperaturen über 32° C ist der Parasit in entschiedenem Vorteil, weil er noch bei 36° C sich vermehren kann, während die diesbezügliche Grenze bei der Motte 34,4 ist;

am Leben bleiben kann die Raupe auch bei 36° C. Hohe, relative Luftfeuchtigkeit ist für den Wirt günstig, niedrige für den Parasiten. Das Verhältnis im Massenwechsel beider Arten (ihr „Gleichgewicht") kann auch beeinflußt werden durch Krankheiten der Raupen. — Wenn der Parasit während des Larvenstadiums ausschlüpfte und vor Beendigung desselben 2 Generationen vollenden konnte, so war er imstande (bei einem Verhältnis von 1 : 10 im Beginn), den Wirt auszurotten. Schlüpft der Parasit dagegen im Beginn des Puppenstadiums aus, so kann er den „langsamen" Stamm nur bei 27° C ausrotten, aber er kann den „schnellen" Stamm bei Temperaturen von 20—27° C überflügeln. K. Friederichs.

Verschiedenes.

Peretz, L. H. und **Slawsky, E. M.**, Die Bedeutung der normalen Mikroflora für den Organismus. Bacterium coli als Immunitätsfaktor. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie. Bd. 80. 1933. S. 520—534.)

Die bei der Behandlung von Darmkrankheiten mittels Bact. coli gewonnenen Ergebnisse sprechen dafür, daß die normale Mikroflora, insbesondere die des Darms, von größter Wichtigkeit für den Organismus ist und einen Faktor der Immunität darstellt. Es gelang nämlich in vitro die antagonistische Wirksamkeit des Bact. coli gegenüber Bact. typhi in Mischkultur außerordentlich zu verstärken. Die analoge Wirksamkeitssteigerung des Bact. coli wurde bei Typhuskranken im Laufe der Erkrankung und Genesung beobachtet und weist auf die schützende Rolle des Bact. coli im Darm hin. Diese erworbene Fähigkeit der Colistämme wird auf die Nachkommenschaft vererbt.

Rodenkirchen (Duisburg).

Ferguson, A. J. und **Rahn, O.**, Zum Nachweis mitogenetischer Strahlung durch beschleunigtes Wachstum von Bakterien. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 4. 1933. S. 574—582.)

Als Sender diente eine junge Agarkultur von B. coli, als Detektor eine Bouillonkultur des gleichen Bakteriums in einem darüberstehenden Quarzschälchen. Ein Erfolg ist nur bei Bestrahlung älterer Kulturen (2 Tage und darüber) vorhanden. Normale Bouillon ist unbrauchbar, da sie die Strahlen zu stark absorbiert; Verff. verwenden Verdünnung 1 : 9. Zu lange (1 Std.) und zu kurze (7,5 Min.) Bestrahlung verursachten keine Wachstumsbeschleunigung. Auch darf die Zellenkonzentration nicht zu groß sein, am besten 100—10 000 Zellen je 1 ccm. Es ist auch besser, nicht eine Zählung auszuführen, sondern die ganze Wachstumskurve der ersten 6 Std. aufzunehmen.

Um den oft gemachten Einwand zu entkräften, daß von dem Sender Stoffe verdampften, die die Wirkung auslösten, wurde eine Kultur in einem mit Gummistopfen fest verschlossenen Quarzkölbchen bestrahlt; auch hier trat die Wirkung auf. Rippel (Göttingen).

Tuthill, J. B. und **Rahn, O.**, Zum Nachweis mitogenetischer Strahlung durch Hefesprossung. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 4. 1933. S. 565—573.)

Verff. prüften die Methode von Baron (Beschleunigung der Hefesprossung durch mitogenetische Strahlung) nach; bisherige negative Erfolge

schreiben sie den vielfach vorgenommenen „Verbesserungen" der Methode zu, wodurch die ursprünglichen Bedingungen nicht mehr verwirklicht waren.

Es zeigte sich, daß normal wachsende Hefe eine konstante maximale Sprossenzahl besitzt, die unabhängig ist von der Vermehrungsgeschwindigkeit. Werden jedoch gealterte Hefezellen auf frische Nährlösung übertragen, so nimmt die Sprossenzahl zu mit der Zunahme der Wachstumsgeschwindigkeit bis zu einem bald erreichten Maximum, das bei den vorliegenden Versuchen z. B. bei 4,5 Std. lag. Nur wenn also mehr als 1 Std. vor diesem Zeitpunkt bestrahlt wird, kann ein mitogenetischer Effekt überhaupt nachgewiesen werden. In dieser Weise richtig angestellte Versuche, wobei eine umgekehrt aufgestellte Petrischale als Detektor von einem aufrecht darunterstehenden kleineren Schälchen als Sender (in beiden Fällen Burgunderhefe, alte bzw. junge Kultur) bestrahlt wurde, verliefen positiv.

Rippel (Göttingen).

Barnes, M. N. und **Rahn, O.**, Tötung von Hefen durch Strahlung des menschlichen Körpers. (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 4. 1933. S. 583—588.)

Gelegentlich wurde beobachtet, daß Hefewachstum ausblieb, wenn die Kulturen von einer bestimmten Person angelegt wurden. Es konnten nun bei 4 Personen, darunter 2 weiblichen, Strahlen festgestellt werden, die durch Quarz, nicht durch Glas, Saccharomyces Mycoderma punctisporus Guill. in kurzer Zeit abtöteten; es muß sich wahrscheinlich um ultraviolette Strahlen handeln; sie konnten namentlich in den Fingerspitzen festgestellt werden.

Oxycholesterin, ein Bestandteil des aus den Talgdrüsen ausgeschiedenen Fettes, vermag ebenfalls in Wasseremulsion die Hefe durch Quarz hindurch abzutöten. Rippel (Göttingen).

Rippel, A. und **Krause, W.**, Lassen sich Beziehungen zwischen Kohlenhydratbildung und Knöllchen bei Leguminosen feststellen? (Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 1934. S. 14—23.)

Es wurde der Kohlenhydratgehalt von Erbsen- und Haferblättern bestimmt, die teils abgeschnitten, teils mit Wurzeln verdunkelt und wieder belichtet wurden. Dabei zeigte sich bei Wiederbelichtung bei den Erbsen eine stärkere Anreicherung von Kohlenhydraten in den Pflanzen mit Wurzeln und Knöllchen im Vergleich zu abgeschnittenen Erbsenpflanzen. Hafer zeigte die Erscheinung nicht. Man muß hieraus auf die oft angenommene enge Wechselwirkung zwischen Pflanze und Bakterien schließen.

Eine Analyse von Erbsenknöllchen zeigte einen Gehalt der Trockensubstanz bis zu ein Drittel an N-freien Substanzen, die bei der Hydrolyse nicht oder nur sehr schwer Zucker ergeben, deren Natur aber noch nicht festzustellen war. Rippel (Göttingen).

Brown, R., Nitrogen Fixation by the Endophyte of Lolium. (Journ. Agric. Sci. Vol. 23. 1933. p. 527—540.)

Verf. schließt — aber nicht mit Sicherheit —, daß bei L. perenne eine N-Bindung durch Mitwirkung einer Pilzart stattfinden könne.

Nicol (Rothamsted).

Müller, W., Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. III. Mitt. Über die Pilzsymbiose holzfressender Insektenlarven. Archiv f. Mikrobiologie. Bd. 5. 84—146. 1934.

Der Symbiont von Sirex gigas (Siriciden) ist ein kultivierbarer Basidiomycet, der in Kultur Schnallenmycel, aber keine Fruchtkörper bildete; in Symbiose finden sich oidienartige Myzelstücke. Die Symbionten der Anobiiden und Cerambyciden Ernobius abietis und mollis, Rhagium bifasciatum, inquisitor und mordax, Leptura rubra waren kultivierbar, nicht die von Xestobium rufovillosum, Anobium striatum, Dendrobium pertinax, Oxymirus cursor. Es handelt sich um Hefen, die bei Ernobius in Kultur und Symbiose übereinstimmen, bei Rhagium in Kultur Formänderung zeigen, die aber durch Kultur in der Lymphe lebender Insekten wieder in die Symbioseform übergeführt werden konnte. Der Hefecharakter wird indessen beibehalten. Sporenbildung fehlte.

Untersuchung der von den Symbionten gebildeten Enzyme sowie des Stoffwechsels ließen keine für das Tier bedeutsame Eigenschaft erkennen; insbesondere fehlten Fähigkeit zur Zellulosezersetzung und Stickstoffbindung.

In der Darmflora, im Fraßmehl und der Außenflora der Anobiiden und Cerambyciden fanden sich hauptsächlich Hefen und grüne Penicillien. Die Symbionten konnten bei Ernobius und Leptura aus dem Darminhalt, teilweise auch aus dem Fraßmehl gewonnen werden; sie waren auch im Darmlumen nachzuweisen.

Im Larvendarm der Cerambyciden konnte ein zelluloselösendes Enzym nachgewiesen werden; dies wird nicht in den symbiontenführenden Blindsäcken erzeugt, die höchstens Spuren davon enthalten. Auch symbiontenfreie Arten enthalten Cellulase.

Analysen von Futterholz und Kot zeigten, daß bei symbiontenführenden und symbiontenfreien Arten eine Verdauung der Zellwände (mit Ausnahme des Lignins) stattfindet. Buchners Deutung des Sinnes der Symbiose, daß die Verdauung des Holzes ermöglicht werde, ist also nicht zutreffend. Der Verf. betrachtet die Symbiose der Anobiniden und Cerambyciden als einen regelmäßig vorhandenen, gemäßigten erblichen Parasitismus; die Pilzspitzen bei weiblichen Imagines brauchen nicht als spezifische, in der Symbiose entstandene Organe aufgefaßt zu werden. Rippel (Göttingen).

Jaschke, W., Beiträge zur Kenntnis der symbiontischen Einrichtungen bei Hirudineen und Ixodiden. (Ztschr. Parasitenkde. Bd. 5. 1933. S. 515—541, 15 Abb.)

Während bei den Plattegeln Protoclepsis tesellata und Hemiclepsis marginata Symbionten nicht nachzuweisen waren, haben die untersuchten Fischegel, nämlich Piscicola geometra, P. punctata, Cystibranchus respirans und Branchellion torpedinis paarige Divertikel am vorderen Teil des Darms, die immer stark mit bestimmten Bakterien angefüllt sind. Pontobdella muricata, ein großer Rochenegel, war frei von Symbionten. Erbliche Übertragung hat bei Piscicola durch die Kokonflüssigkeit statt. Reichenow hat für Placobdella eine regelmäßige Beimischung der Symbionten zum Blut beschrieben, dergleichen konnte hier nicht beobachtet werden, wenngleich eine gelegentliche Entleerung

von B. in den Darm hinein erfolgen mag. — Bei Hirudo wurden außer den bereits bekannten Symbionten auf dem Epithel in den Ampullen der Nephridien unbewegliche Stäbchen von etwa 3 μ Länge in den Ampullenepithelzellen festgestellt. Haemopsis ist weniger regelmäßig befallen.

Bei Untersuchung verschiedener Zecken wurden in Amblyommaarten keine Symbionten gefunden. Bei Argas und Ornithodorus befinden sich in den Malpighischen Gefäßen und in den Ovarien kleine Gram-negative Kokken. Die Übertragung dieser auf das Ei und die Wanderung während der Entwicklung der Zecke werden beschrieben. Rhipicephalus hat im Ei Stäbchen, kleinere in den Malpighischen Gefäßen. Die S. der Zecken sind „rickettsienähnlich".

K. Friederichs.

Galadjieff, M. et Metalnikov, S., L'immortalité de la cellule. Vingt-deux ans de culture d'Infusoires sans conjugaison. (Arch. Zool. expér. et générale. T. 75 21. 1933 7. p. 331—352.)

Die Verff. haben 21 Jahre lang in hohlen Objektträgern Paramaecien gezüchtet, die keine Möglichkeit hatten, zu konjugieren, da die Teilungsprodukte täglich bis auf eines aus dem Tropfen entfernt wurden. In 20 Jahren und 5 Monaten folgten auf diese Weise 8704 Generationen aufeinander. Es gab Perioden langsamerer Vermehrung ohne erkennbare Ursache. Paramaecium erfährt nach R. Hertwig und Jennings durch Konjugation keine Steigerung, sondern eine Herabsetzung seiner Fruchtbarkeit. Hieran anknüpfend stellen Verff. die These auf, daß der Einzeller unsterblich sei, die Konjugation jedoch die Aufgabe habe, durch Verschmelzung der Varianten die Einheit der Art herzustellen, die ohnedem gar nicht bestände, so aber ein gut definierbarer Begriff in dem Sinne sei, daß die Art die Individuen umfaßt, die fruchtbare Nachkommenschaft miteinander erzeugen können. Bei den vielzelligen Tieren sind nur die Keimzellen unsterblich; der Tod des somatischen Zellkomplexes hat sich im Laufe der Phylogenie als etwas im Interesse der Keimzelle liegendes herausgebildet.

K. Friederichs.

Jennings, H. S., Raffel, D., Lynch, R. S., and Sonneborn, T. M., The diverse biotypes produced by conjugation within a clone of Paramaecium aurelia. (Journ. exper. Zool. Vol. 62 2. 1932 7. p. 368—408.)

Konjugation innerhalb eines Klons von Paramaecium aurelia brachte eine große Anzahl von Klonen hervor, die konstitutionell verschieden waren. Mehrere solche Klone werden beschrieben, die sich z. B. durch die Schnelligkeit der Aufeinanderfolge der Teilungen und durch Größe und Form der Individuen unterscheiden. Diese Klone sind sehr verschieden kräftig und widerstandsfähig gegen ungünstige Bedingungen. Manche sterben schnell aus, andere halten sich wenigstens einige Generationen hindurch. Es findet also eine starke natürliche Auslese statt. Einige der Klone produzieren zeitweise Linien, die für unbestimmt lange Perioden von anderen Linien desselben Klons verschieden sind. In anderen Klonen hingegen kommt solche Spaltung in verschiedene Biotypen selten oder nie vor. Wo sie vorkommt, geschieht es nicht oft, selbst in den ausgeprägtesten Fällen, und ist nicht zu vergleichen mit der explosiven Produktion einer großen Zahl verschiedener Biotypen nach Konjugation. K. Friederichs.

Peters, N. und Panning, A., Die Chinesische Wollhandkrabbe (Eriocheir sinensis H. Milne-Edwards) in Deutschland. (Zool. Anzeiger. Erg.-Bd. zu Bd. 104. 1933. 180 S., 66 Fig.)

Die Öffentlichkeit hat sich viel mit der Wollhandkrabbe als einem fremdländischen Eindringling in Deutschland beschäftigt, und dabei ist auch viel Übertriebenes und Unrichtiges berichtet worden. Nunmehr liegt eine Monographie vor. Das erste Viertel derselben ist rein zoologisch; es bringt die Systematik der Gattung und schildert den Bau unserer Art. In etwa 20 Jahren hat die W. die Gewässer fast ganz Norddeutschlands und Hollands erobert. Selten verläßt sie das Wasser, dessen Boden ihr eigentlicher Aufenthalt ist. Ihre Gewohnheit, Erdlöcher herzustellen, in denen sie sich bei Ebbe, im Winter dauernd, verbirgt, hat stellenweise zerstörende Wirkung auf die Ufer und Küsten, wie die Verff. an der Hand von Abbildungen dartun. Der Grad der Gefährlichkeit der W. in dieser Hinsicht wird erst dann richtig beurteilt werden können, wenn die Vermehrung der Krabben zum Stillstand gekommen sein wird und sich ein Gleichgewichtszustand mit der lebenden Umwelt hergestellt haben wird. Andere wirtschaftliche Schäden mannigfacher Art kommen hinzu, insbesondere die Beschädigung der Netze durch Zernagen und die Nahrungskonkurrenz für die Nutzfische. Man hat erwogen, das Bacterium pestis astaci zur Vernichtung der Krabben anzuwenden, aber abgesehen davon, daß dies wahrscheinlich nicht zum Erfolg führen würde, ist dieser Bazillus auch Erreger der „Schuppenstraube" der Fische. Praktisch kommt nur Massenfang der Krabben allenfalls in Betracht. Um als menschliche Nahrung zu dienen, hat die Krabbe eine zu geringe Masse. Krabbenmehl als Futter für Fische oder Schweine hat sich nicht bewährt, doch liegt eine Angabe vor, daß die frischen oder gekochten Krabben als Forellenfutter brauchbar seien. Außerdem können sie als Köder beim Fischfang dienen. Ein Anhang von W. Schnakenbeck beschreibt die Larven und ersten Bodenformen der Krabbe.

K. Friederichs.

Kulikow, W., Alakrinskaja, N. und Popowa, A., Zuckergärung und Hydrolyse der Kohlenhydrate. (Microbiology. Vol. 2. 1933. p. 260—265.) [Russisch.]

Hydrolyseversuche mit Zellulose, bei verschiedener Temperatur und verschiedener HCl-Konzentration zeigten, daß bei ½% HCl (vom Zellulosegewicht), Druckerhöhung bis 5 Atm. sich der Zuckergewinn steigert, bei weiterer Druckerhöhung der Zuckergewinn jedoch unverändert bleibt. Bei 1% HCl und Druck von 5 Atm. ist der Zuckergewinn derselbe wie bei ½% HCl, nimmt jedoch bei weiterer Druckerhöhung (7—7½ Atm.) ab. Der Alkoholgewinn steigt gleichfalls nur bei Druckerhöhung bis 5 Atm., ist jedoch bei 1% HCl etwas höher, als bei ½% HCl und zwar infolge der Zersetzung von Pentosen.

Kochen mit ½—1% HCl 15 Min. lang bei Druck von 5 Atm., gibt 23% Zucker, darunter 50—70% gärungsfähigen. Die Methode ist infolge der einfachen Apparatur und des geringen HCl-Verbrauches vorteilhaft.

A. Imšenecki (Leningrad).

Braun, K., Acocanthera-Arten als Giftpflanzen. (Angew. Botanik. Bd. 14. 1932. S. 511—536. Abgedruckt in: Das Hochland [Mufindi, Ostafrika]. Jahrg. 3. Nr. 8/9. 1933.)

Braun, K., Tephrosia Vogelii Hook f. als Fischgiftpflanze im früheren Deutsch-Ostafrika. (Angew. Botanik. Bd. 15. 1933. S. 253—261.)

Das Interesse an Pfeilgift- und Fischgiftpflanzen ist durch die in den letzten Jahren weit verbreitete Anwendung der Derrisarten als Insektizide ungemein gefördert worden. Waren bisher außer der Botanik hauptsächlich Ethnographie und Pharmakologie daran beteiligt, so ist jetzt noch die angewandte Entomologie hinzugekommen. Verf. hat in fast 20 jähriger Arbeit in Deutsch-Ostafrika alles Erreichbare an eigenen Beobachtungen und Literaturangaben gesammelt und faßt nun die Ergebnisse zusammen. Er gibt zunächst eine eingehende Beschreibung der Arten und schildert dann in einem speziellen Teil, der nach den früheren Verwaltungsbezirken des Landes gegliedert ist, ihr Vorkommen und die Zubereitung und Verwendung der Gifte unter Angabe der bei den verschiedenen Eingeborenenstämmen gebräuchlichen Namen. Es wird dadurch ermöglicht, die Pflanzen im Bedarfsfalle mit Sicherheit zu erkennen und ohne Schwierigkeit in größeren Mengen sammeln zu lassen.

Von Acocanthera, die im Gebiet in 3 Arten, A. Friesiorum Mgf., A. longiflora Stapf und A. venenata (Thbg.) G. Don. vorkommt, stammt ein früher viel gebrauchtes Pfeilgift; die Pflanzen enthalten die Alkaloide und Glykoside Abyssinin, Acocantherin und Ouabain in allen Teilen und wirken als Herzgift. Tephrosia ist ein Fischgift, das ebenso wirkt und verwendet wird wie die bekannte Derriswurzel und daher auch als Insektizid von Bedeutung sein kann. Morstatt.

Filatowa, A. und **Tobjakina, A.,** Zur Frage der antiseptischen Eigenschaften der pflanzlichen ätherischen Öle. (Microbiology. Vol. 2. 1933. p. 301—302.) [Russisch.]

Bei Untersuchung der antiseptischen Eigenschaften der ätherischen Öle von Allium Cepa und Senf wurde festgestellt, daß dieselben in vitro ausgesprochen bakterizid wirken, und zwar werden Hefekulturen und einige Bakterien (B. Proteus, Staphylococcus, Bact. Coli) im Verlauf von 10—15 Min. getötet. Die ätherischen Öle wirken bakterizid nicht nur bei unmittelbarer Berührung, sondern auch aus der Entfernung (Dämpfe).

Die Versuche wurden mit frischzerriebener Zwiebel (Allium Cepa) und mit gewöhnlichem Tischsenf ausgeführt.

A. Imšenecki (Leningrad).

Linden, Gräfin v., Herzberg, E. und **Guttmann, E.,** Cuprotect, ein neues reizloses und geruchloses Antiseptikum für Haut und Schleimhaut. (Münch. med. Wochenschr. Jahrg. 79. 1933. S. 1325—1326.)

Eine 1proz. Cuprotectlösung kommt an Wirksamkeit der 10proz. Jodlösung gleich. Auch Anaerobier werden leicht abgetötet. Besonders Kupferaffin zeigen sich die abgestorbenen Epidermisschüppchen, die meist im Nagelfalz zusammengeballt liegen und einen Unterschlupf für Keime verschiedenster Art bilden. Kupferüberempfindlichkeit kommt, im Gegensatz zum Sublimat und Jod, kaum vor. Rodenkirchen (Duisburg).

Abgeschlossen am 26. Juli 1934.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 90. No. 20/26.
Ausgegeben am 12. Oktober 1934.

Nachdruck verboten.

Zur Physiologie der Nitrifikationsorganismen im natürlichen Boden.

II. Der Einfluß der Glukose auf die Nitrifikation.

[Aus dem Institut für Agrikulturchemie und Bakteriologie der Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.]

Von **Horst Engel.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Glukose wirkt auf Reinkulturen der Nitrifikationsbakterien, insbesondere der Nitritbildner, wie ein starkes Gift. Schon sehr geringe Konzentrationen hemmen die Nitrifikation in mineralischer Nährlösung (Winogradsky 1906, Heubült 1929 u. a.). Um so auffallender waren die Beobachtungen einiger Forscher, wonach Glukose die Tätigkeit der salpeterbildenden Bakterien im Boden günstig beeinflußt (Bazarewski 1906, Coleman 1908, Fischer 1911 u. a.).

In einer voraufgegangenen Mitteilung (Engel 1932) habe ich auf Grund der Befunde älterer Forscher (Temple 1914, Barthel 1919, Waksman 1923 u. a.) und eigener Untersuchungen gezeigt, daß der günstige Einfluß stickstoffreicher organischer Stoffe, wie z. B. Harnstoff, auf die Nitrifikation im Boden auf Änderungen des Reaktionszustandes zurückgeführt werden kann. Ein unmittelbarer Einfluß auf das Leben der Nitrifikationsbakterien bestand nicht. Inzwischen stellte Conrad (1934) fest, daß der Zusatz organischer Nichtelektrolyte wie Harnstoff zum Boden infolge mikrobiologischer Umsetzungen nicht nur die Bodenreaktion, sondern im Zusammenhang damit auch den Dispersitätsgrad der Bodenkolloide, die elektrische Leitfähigkeit der Bodenlösung sowie die Konzentration der Kationen, insbesondere des Kalziums und Magnesiums, weitgehend ändert.

Auch der mikrobiologische Abbau der Glukose im Boden kann unter Umständen von tiefgreifenden Änderungen des physikalisch-chemischen Bodenzustandes begleitet sein. So beobachtete Conrad, daß Zuckerzusatz einen Alkalitätsanstieg hervorrief. Dadurch wurde der Dispersitätsgrad erhöht, die spezifische Leitfähigkeit sowie der Kationengehalt der Bodenlösung vermindert. Der Alkalitätsanstieg wurde in der Hauptsache durch mikrobielle Festlegung des Nitratstickstoffs hervorgerufen.

Es bestand demnach Anlaß, die älteren Untersuchungen über den günstigen Einfluß der Glukose auf die Nitrifikation nachzuprüfen. Die im folgenden beschriebenen Versuche wurden im Jahre 1932 durchgeführt.

Zuvor sei noch auf die Untersuchungen von Barthel hingewiesen, der schon 1914 den günstigen Einfluß der Glukose auf die Nitrifikation im

Boden in Abrede stellte. Er beobachtete eine Schädigung. Die Untersuchungen Barthels vermochten jedoch noch keine befriedigende Klärung der Frage zu bringen.

Experimenteller Teil.

Versuch 1. Es sollte zunächst festgestellt werden, ob tatsächlich die Tätigkeit der salpeterbildenden Bakterien im Boden durch Zusatz von Glukose irgendwie beeinflußt werden kann. Es war zu erwarten, daß größere Mengen von Glukose durch günstige Beeinflussung stickstoffbindender Bakterien mittelbar auch zur Salpeterbildung beitragen würden (Koch 1907, Engel 1931).

100 g des frisch an der Luft getrockneten und durch das 2-mm-Sieb geschickten, leichten Dahlemer Sandbodens wurden mit 12 ccm Leitungswasser, dem 3 mg K_2HPO_4 zugesetzt waren, sowie mit 1 g $CaCO_3$ vermengt. Die Wassermenge entsprach etwa 45% der Wasserkapazität des Bodens. Der Kalk hatte den Zweck, den p_H-Wert möglichst in Höhe des Nitrifikationsoptimums zu halten und ein Absinken in das saure Gebiet zu verhindern. Der Boden wurde in 750 ccm fassende Erlenmeyerkolben gefüllt, die Gefäße mit Watte verschlossen und im Brutschrank bei 30° C aufbewahrt. Es wurden 42 Gefäße angesetzt, von denen die Hälfte einen Zusatz von 1,5 g Glukose je Gefäß erhielt.

Von jeder der beiden Reihen kamen 3 Gefäße sofort zur Analyse, die übrigen, mit Ausnahme der letzten 6, in Abständen von 8 Tagen. Es wurden bestimmt: Gesamt-N, nitrifizierter N, sowie der p_H-Wert. Bezüglich der Methoden sei auf die 1. Mitteilung hingewiesen.

Wie die Tabelle 1 zeigt, fiel das Ergebnis erwartungsgemäß aus. Der Zusatz von Glukose machte sich in der Tat günstig bemerkbar. Es ist jedoch auffallend, daß die Nitrifikation anfangs gehemmt wurde und sich die günstige Wirkung erst nach etwa 3 Wochen zeigte, einer Zeit, nach der der Zucker wahrscheinlich schon aus dem Boden verschwunden war.

Tabelle 1.

Nach Tagen		0	7	14	21	28	35	75
mg Nitrat N je 100 g Boden	ohne Zusatz	0,32 ± 0,02	1,12 ± 0,04	1,34 ± 0,02	1,71 ± 0,03	2,08 ± 0,04	2,39 ± 0,02	3,60 ± 0,04
	+ 1,5 g Glukose	0,19 ± 0,02	0,06 ± 0,03	1,23 ± 0,03	2,94 ± 0,06	3,65 ± 0,09	5,24 ± 0,11	8,47 ± 0,08

Wie sehr das zutreffen dürfte, folgt aus der Tabelle 2, in der die Werte für den Gesamt-N aufgeführt sind. Der Zusatz von Glukose hatte eine erhebliche Zunahme des Stickstoffs herbeigeführt. Maximal wurden 15,5 mg N gebunden, das sind 10 mg N je 1 g Glukose. Wie eine besondere Nachprüfung ergab, handelte es sich um die Tätigkeit von Azotobacter chroococcum. Die Tatsache nun, daß Azotobakter schon nach etwa 14 Tagen seine Tätigkeit einstellte, war das sichere Zeichen für den Verbrauch der Glukose. Autolytische Vorgänge gaben danach den Azotobakterstickstoff frei, so daß er nitrifiziert werden konnte. Das Wesentliche an diesen Vorgängen ist also, daß erst mit dem Aufhören der N-Bindung durch Azotobakter die Tätigkeit der Nitrifikationsbakterien einsetzte. Die gesteigerte Nitrifikation im Boden nach Zugabe von Glukose war demnach nicht unmittelbar auf den Zucker zurückzuführen, sondern die Folge der günstig be-

einflußten Tätigkeit N-bindender Bakterien. Das veranschaulicht besonders deutlich Abbildung 1. Es handelte sich hier um die gleichen Erscheinungen, die auch nach Zusatz von Mannit zum Boden zu beobachten sind (Engel 1931).

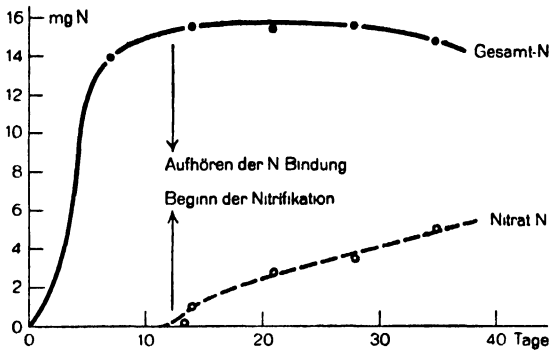


Abbildung 1.

Tabelle 2.

Nach Tagen		0	7	14	21	28	35	75
mg Gesamt-N je 100 g Boden	ohne Zusatz	46,5 ± 0,2	46,4 ± 0,2	46,3 ± 0,2	45,9 ± 0,2	46,4 ± 0,2	46,6 ± 0,2	46,0 ± 0,4
	+ 1,5 g Glukose	44,9 ± 0,2	58,8 ± 0,3	60,4 ± 0,1	60,3 ± 0,2	60,5 ± 0,3	59,7 ± 0,1	59,1 ± 0,1

Die Bodenreaktion dürfte auf die eben beschriebenen Vorgänge kaum von größerem Einfluß gewesen sein, wie den Werten der Tabelle 3 entnommen werden mag.

Tabelle 3.

Nach Tagen		0	7	14	21	28	35	75
p_H-Wert (in H_2O gemessen)	ohne Zusatz	8,35	8,30	8,25	8,30	8,20	8,20	8,05
	+ 1,5 g Glukose	8,40	8,80	8,65	8,60	8,50	8,45	8,35

Anfangs machte sich in der Glukosereihe ein deutlicher Alkalitätsanstieg bemerkbar, der zweifellos mit der N-Bindung und N-Festlegung in Beziehung stand. Vermutlich war er auf die bevorzugte P-Aufnahme aus dem K_2HPO_4 durch Azotobakter sowie auf die Festlegung des zu Beginn im Boden enthaltenen Nitrat-N zurückzuführen. Mit Einsetzen der Nitrifikation fielen sodann die p_H-Werte wieder ab. In der ohne Zucker gelassenen Reihe nahm der Alkalitätsgrad von Anfang an langsam ab, entsprechend dem stetig zunehmenden Gehalt des Bodens an Nitrat-N.

Versuch 2. Bazarewski, Coleman u. a. setzten bei ihren Versuchen dem Boden $(NH_4)_2SO_4$ zu. Es war also weiter zu prüfen, ob der

Stickstoff des $(NH_4)_2SO_4$ leichter nitrifiziert wird, wenn der Boden Glukose enthält.

600 g lufttrockener Dahlemer Sandboden wurden mit 75 ccm dest. Wasser, in dem eine 20 mg Stickstoff äquivalente Menge $(NH_4)_2SO_4$ gelöst war, gleichmäßig vermengt. Im ganzen wurden 18 Gefäße angesetzt (750 ccm fassende Erlenmeyer), 9 von diesen erhielten noch 5 g $CaCO_3$ je Kolben. Der Glukosezusatz wurde in zwei Gaben von 3 und 6 g gestaffelt. Der Versuchsplan war demnach folgender:

Reihe I, ohne $CaCO_3$. { a) + $(NH_4)_2SO_4$; b) + „ + 3 g Glukose ; c) + „ + 6 g „

Reihe II, mit $CaCO_3$ . . { a) + $(NH_4)_2SO_4$; b) + „ + 3 g Glukose ; c) + „ + 6 g „

Die Gefäße wurden im Brutschrank bei 30° C untergebracht. Bei jeder Probenahme für die Analysen wurden die Gefäße vollständig entleert. Nach Durchmischung des Bodens und nach Probenahme wurde der Rest wieder in die Kolben zurückgefüllt und in den Brutschrank gebracht. Die wiederholte Durchmischung des Bodens ließ erwarten, daß im Gegensatz zum ersten Versuch die Nitrifikation diesmal schneller verlaufen würde.

Ia. Ohne $CaCO_3$, ohne Glukose.

Das Analysenergebnis ist in Tabelle 4 zusammengestellt. Es ist nichts besonderes zu erwähnen. Nach 14 Tagen waren etwa zwei Drittel des zugesetzten NH_4-Stickstoffs nitrifiziert. Entsprechend der geringen Pufferung des Bodens fiel dabei der p_H-Wert beträchtlich in das saure Gebiet ab. Die in der Spalte „Festgelegter N" aufgeführten Werte ergeben sich aus der Differenz: dem Boden zugesetzter NH_4-N abzüglich gefundener Ammoniak-N + nitrifizierter N.

Tabelle 4. mg N/100 g trock. Boden

Nach Tagen	Ammoniak-N mg	Nitrifizierter N mg	Nitrit-N mg	Festgelegter N mg	p_H-Wert
0	18,7 ± 0,0	0,85 ± 0,05	—	0,5	7,30
4	17,2 ± 0,1	2,26 ± 0,06	0,24 ± 0,00	0,5	7,40
7	12,1 ± 0,1	7,36 ± 0,08	—	0,5	6,65
11	6,82 ± 0,09	12,6 ± 0,1	—	0,6	5,65
14	4,34 ± 0,01	14,8 ± 0,1	—	0,9	5,50

Ib. Ohne $CaCO_3$, mit 3 g Glukose.

Der Zusatz von Glukose zum Boden brachte, wie die Tabelle 5 zeigt, den Verlauf der Umsetzungen zunächst in eine ganz andere Richtung. Schon nach 3 Tagen waren, wie nicht anders zu erwarten stand, etwa zwei Drittel des NH_4-N durch das Mikrobengemisch des Bodens festgelegt. Selbst der anfänglich vorhandene Nitrat-N wurde davon ergriffen. Aber schon nach 7 Tagen war offenbar der Zucker verbraucht; denn der in den Mikrobenleibern festgelegte Stickstoff trat wieder in Freiheit. Zur gleichen Zeit setzte die Nitrifikation ein, und zwar sowohl des freiwerdenden Mikrobenstickstoffs wie auch des verbliebenen Restes vom $(NH_4)_2SO_4$. Von einer Förderung der Nitrifikation durch die Glukose war nichts festzustellen.

Tabelle 5. mg N/100 g trock. Boden

Nach Tagen	Ammoniak-N mg	Nitrifizierter N mg	Nitrit-N mg	Festgelegter N mg	pH-Wert
0	18,5 ± 0,1	0,80 ± 0,02	—	0,7	7,20
3	7,61 ± 0,06	0,42 ± 0,12	—	12,0	7,05
7	6,93 ± 0,17	3,42 ± 0,24	—	9,6	7,10
10	5,36 ± 0,12	5,83 ± 0,12	—	8,8	6,55
14	2,05 ± 0,23	9,08 ± 0,05	—	8,9	5,85

Ic. Ohne $CaCO_3$, mit 6 g Glukose.

Auch der erhöhte Glukosezusatz änderte, wie ein Blick auf die Tabelle 6 zeigt, an den Verhältnissen nichts. Der Grad der N-Festlegung war naturgemäß noch etwas größer. Fast drei Viertel der zugefügten N-Menge waren nach 3 Tagen von den Bodenorganismen aufgenommen. Vom anfänglich vorhandenen Nitrat-N blieb nur noch eine Spur. Aber schon nach 7 Tagen mußte auch hier der Zucker erschöpft sein, da die Mikroben in starker Autolyse begriffen waren, wie der Wiederanstieg der Werte für den Ammoniak-N zeigt. Ein günstiger Einfluß der Glukose auf die Tätigkeit der Nitrifikationsbakterien ließ sich nicht beobachten.

Tabelle 6. mg N/100 g trock. Boden

Nach Tagen	Ammoniak-N mg	Nitrifizierter N mg	Nitrit-N mg	Festgelegter N mg	pH-Wert
0	18,5 ± 0,2	0,69 ± 0,01	—	0,8	7,20
3	5,25 ± 0,11	0,09 ± 0,05	—	14,7	7,05
7	7,36 ± 0,13	1,24 ± 0,11	—	11,4	7,15
10	6,09 ± 0,07	4,35 ± 0,08	—	9,6	6,80
14	2,19 ± 0,30	8,50 ± 0,28	—	9,3	5,95

IIa. Mit 5 g $CaCO_3$, ohne Glukose.

Wie die Tabelle 7 ausweist und wie auch nicht anders zu erwarten war, förderte der Kalk in dem schlecht gepufferten Boden die Nitrifikationsgeschwindigkeit ganz erheblich. Nach 14 Tagen war praktisch alles Ammoniak aus dem Boden verschwunden und in Salpeterstickstoff überführt.

Tabelle 7. mg N/100 g trock. Boden

Nach Tagen	Ammoniak-N mg	Nitrifizierter N mg	Nitrit-N mg	Festgelegter N mg	pH-Wert
0	18,7 ± 0,0	0,81 ± 0,01	—	0,5	7,85
4	15,6 ± 0,1	3,72 ± 0,05	1,77 ± 0,03	0,7	7,85
7	2,97 ± 0,06	13,8 ± 0,1	8,84 ± 0,15	3,2	7,70
11	0,58 ± 0,06	16,3 ± 0,2	7,57 ± 0,20	3,1	7,85
14	0,55 ± 0,04	16,3 ± 0,0	0,51 ± 0,03	3,1	7,80

Besonders erwähnenswert sind die beträchtlichen Mengen von salpetriger Säure. Das Erscheinen der Nitritphase beruhte nicht etwa auf einem Mangel an Nitratbakterien; denn sonst hätte die gleiche Beobachtung im Versuch I a, der ohne $CaCO_3$ blieb, gemacht werden müssen. Es ist vielmehr anzunehmen, daß der durch den Kalk hervorgerufene Anstieg der OH-Ionenkonzentration die NH_3-Tension derart steigerte, daß es zu einer Vergiftung des gegen Ammoniak sehr empfindlichen Nitratbildners kam. In der Tat ließ sich durch den Geruch wie auch durch Lackmuspapier über dem Boden freies Ammoniak nachweisen.

Man kann also im Boden die einzelnen Phasen der Nitrifikation sichtbar machen, wenn nur die Bedingungen danach gestaltet werden. Der Nitratbildner verhält sich damit im Boden Ammoniak gegenüber nicht anders wie in Reinkultur in mineralischer Nährlösung. Daß die einzelnen Phasen der Nitrifikation auch nebeneinander verlaufen sind, wie die Tabelle 7 zeigt, spricht noch nicht gegen diese Ansicht, sondern ist auf die besonderen physikalisch-chemischen Verhältnisse im Boden zurückzuführen.

Ob die unter Spalte „Festgelegter N" berechneten Werte im vorliegenden Fall tatsächlich festgelegten Stickstoff bedeuten, erscheint zweifelhaft. Es kann hier auch ein besonderer Fall von chemischer Denitrifikation vorliegen. Dieser tritt nach unseren Beobachtungen (Engel und Kaufmann 1933) immer dann ein, wenn neben N_2O_3 freies Ammoniak oder Amino- bzw. Amidstickstoff zugegen ist. Leider läßt sich eine Entscheidung darüber nicht fällen, da der Gesamt-N im Boden nicht bestimmt wurde. Verluste von Stickstoff in derartigem Umfange durch Verflüchtigung von NH_3 kommen nach unseren Erfahrungen nicht in Frage.

IIb. Mit 5 g $CaCO_3$, mit 3 g Glukose.

Die Analysendaten sind in Tabelle 8 zusammengestellt.

Der Versuch brachte nichts wesentlich Neues. Naturgemäß ging die Festlegung des NH_4-Stickstoffs unter dem Einfluß des Kalkes schneller und vollständiger vor sich als ohne Kalk (siehe Versuch I b), ebenso die

Tabelle 8. mg N/100 g trock. Boden

Nach Tagen	Ammoniak-N mg	Nitrifizierter N mg	Nitrit-N mg	Festgelegter N mg	pH-Wert
0	18,5 ± 0,0	0,67 ± 0,04	—	0,8	7,80
3	5,36 ± 0,04	0,46 ± 0,02	—	14,2	7,95
7	0,53 ± 0,04	6,94 ± 0,11	0,28 ± 0,01	12,5	8,00
10	0,49 ± 0,05	8,20 ± 0,06	—	11,3	8,00
14	0,51 ± 0,04	8,80 ± 0,05	—	10,7	8,00

Wiedermineralisierung. Die Nitrifikationsgeschwindigkeit vom 3. bis zum 14. Tage war der im kalkfreien Boden beträchtlich überlegen. Da aber keine Glukose mehr vorhanden sein konnte, war diese Beschleunigung lediglich dem Einfluß des $CaCO_3$ zuzuschreiben. Von einer günstigen Wirkung des Zuckers war abermals nichts zu bemerken.

IIc. Mit 5 g $CaCO_3$, mit 6 g Glukose.

Wie die Tabelle 9 zeigt, blieb auch die höhere Zuckergabe auf die Tätigkeit der Nitrifikationsbakterien ohne direkten Einfluß. Nach 3 Tagen waren mehr als drei Viertel des dem Boden zugegebenen NH_4-Stickstoffs festgelegt. Nach weiteren 4 Tagen war aber ein Teil davon schon wieder mineralisiert.

Tabelle 9. mg N/100 g trock. Boden

Nach Tagen	Ammoniak-N mg	Nitrifizierter N mg	Nitrit-N mg	Festgelegter N mg	pH-Wert
0	18,5 ± 0,0	0,70 ± 0,01	—	0,80	7,80
3	4,12 ± 0,11	—	—	15,9	7,95
7	2,23 ± 0,14	5,08 ± 0,17	2,93 ± 0,13	12,7	7,80
10	0,46 ± 0,08	7,87 ± 0,06	0,67 ± 0,01	11,7	7,80
14	0,45 ± 0,05	8,22 ± 0,09	—	11,3	7,80

Das Hervortreten der Nitritphase läßt vermuten, daß die Mineralisierung sehr energisch vor sich ging und größere Mengen freien Ammoniaks gebildet wurden.

Die zusammenfassende Darstellung aller 6 Versuchsreihen in der Abbildung 2 zeigt noch einmal mit aller Deutlichkeit die Wirkungslosigkeit der Glukose. Von einer Förderung der Nitrifikation kann in keinem Fall

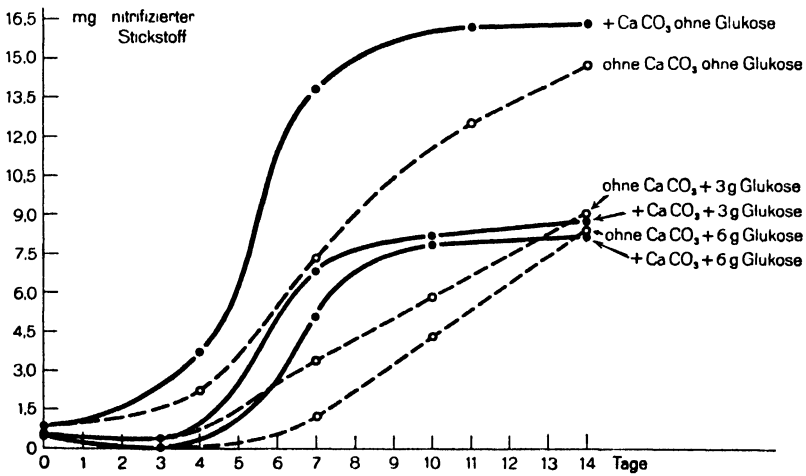


Abbildung 2.

die Rede sein. Der mehr S-förmige Verlauf der Nitrifikationskurven in Gegenwart von $CaCO_3$ ist die Folge der durch den Kalk hervorgerufenen günstigen Bodenreaktion.

Versuch 3. Es sollte festgestellt werden, in welcher Weise sehr geringe bzw. sehr große Zuckermengen wirken würden. Von verschiedenen Forschern ist behauptet worden, daß der günstige Einfluß der Glukose sich nur bei sehr kleinen Mengen infolge Stimulationswirkung bemerkbar mache.

Die Versuchsanlage war grundsätzlich die gleiche wie beim vorigen Versuch. 600 g Boden wurden mit 75 ccm dest. Wasser, in dem zum Unterschied diesmal 0,17 g K_2HPO_4 gelöst waren, gut vermischt. Die N-Gabe betrug wiederum 20 mg in Form von $(NH_4)_2SO_4$ je 100 g Boden. Der Kalk wurde fortgelassen. Reihe I blieb ohne, II erhielt 0,6, III 6,0 und IV 12,0 g Glukose je Gefäß. N_2O_3 wurde nicht bestimmt, dafür aber der Gesamt-N.

I. Ohne Glukose.

Wie die in Tabelle 10 zusammengestellten Zahlen erkennen lassen, bietet das Ergebnis nichts Neues. Zum Unterschied gegen früher wurde fast der gesamte verabfolgte NH_4-Stickstoff nitrifiziert. N-Verluste waren nicht eingetreten.

Tabelle 10. mg N/100 g trock. Boden

Nach Tagen	Gesamt-N mg	Ammoniak-N mg	Nitrifizierter N mg	Festgelegter N mg	pH-Wert
0	73,7 ± 0,3	19,1 ± 0,0	0,57 ± 0,01	0,3'	7,55
4		14,7 ± 0,0	3,54 ± 0,25	1,8	6,85
8	73,8 ± 0,5	2,54 ± 0,15	16,4 ± 0,1	1,1	6,45
11		0,36 ± 0,03	17,9 ± 0,3	1,7	6,50
14	73,8 ± 0,2	0,56 ± 0,04	18,1 ± 0,2	1,3	6,50

II. Mit 0,6 g Glukose.

Das Ergebnis findet sich in Tabelle 11. Eine nachhaltige Förderung der Nitrifikation hatte nicht stattgefunden. Lediglich zu Beginn des Versuchs schienen die Nitrifikationsorganismen etwas schneller gearbeitet zu

Tabelle 11. mg N/100 g trock. Boden

Nach Tagen	Gesamt-N mg	Ammoniak-N mg	Nitrifizierter N mg	Festgelegter N mg	pH-Wert
0	73,7 ± 0,3	19,1 ± 0,0	0.57 ± 0,01	0,3	7,55
4	75,1 ± 0,0	11,0 ± 0,2	4,73 ± 0,07	4,3	6,80
8	74,0 ± 0,4	0,34 ± 0,06	15,0 ± 0,2	4,6	6,75
11		0,43 ± 0,04	15,2 ± 0,2	4,4	6,75
14	73,4 ± 0,2	0,55 ± 0.04	15,3 ± 0,3	4,2	6,70

haben als in der Reihe ohne Glukose. Ein kleiner Teil des verabfolgten NH_4-Stickstoffs wurde festgelegt. Die p_H-Werte lassen erkennen, daß die vorliegende Bodenprobe stärker gepuffert war als die des Versuchs 1. Sehr wahrscheinlich beruhte darauf auch das bessere Nitrifikationsvermögen.

III. Mit 6 g Glukose.

Leider war es im vorliegenden Fall nicht möglich, den Analysentermin am 4. Versuchstage wahrzunehmen. Dafür wurde, wie die Tabelle 12 zeigt, der Versuch über 17 Tage ausgedehnt. Schon nach 6 Tagen war praktisch aller NH_4-Stickstoff aus dem Boden verschwunden und festgelegt. Der von den Mikroorganismen einverleibte Stickstoff war zu diesem Zeitpunkt

Tabelle 12. mg N/100 g trock. Boden

Nach Tagen	Gesamt-N mg	Ammoniak-N mg	Nitrifizierter N mg	Festgelegter N mg	pH-Wert
0	73,7 ± 0,3	19,1 ± 0,0	0,57 ± 0,01	0,3	7,55
6	74,3 ± 0,2	0,28 ± 0,03	1,16 ± 0,09	18,6	7,90
10	74,5 ± 0,4	0,41 ± 0,01	2,02 ± 0,12	17,6	7,90
13	74,4 ± 0,1	0,54 ± 0,04	2,73 ± 0,02	16,7	7,85
17	73,8 ± 0,6	0,50 ± 0,03	3,71 ± 0,21	15,8	7,85

aber auch schon wieder der Mineralisation unterworfen, wie der Beginn der Nitrifikation zu erkennen gibt. Auch scheint vorübergehend Stickstoff aus der Luft gebunden worden zu sein. Im ganzen betrachtet befand sich der Boden der vorliegenden Versuchsreihe in einem wesentlich besseren mikrobiologischen Zustand als der der beiden ersten Versuche (Seite 386). Eine Förderung der Nitrifikation durch die Glukose war allerdings nicht zu erkennen.

IV. Mit 12 g Glukose.

Bei der großen Zuckergabe wurde naturgemäß der Stickstoff in noch stärkerem Maße und anhaltender festgelegt als oben. Nach 6 Tagen waren analytisch sicher erfaßbare Mengen Ammoniak- und Nitratstickstoff im Boden nicht vorhanden. Aus den Werten der Tabelle 13 geht weiter hervor, daß neben der N-Fixierung auch eine deutliche Bindung des atmosphärischen Stickstoffs einhergegangen war. Man kann daraus den Schluß ziehen, daß während der Festlegung nicht alle Glukose verbraucht wurde, so daß der Rest der Verarbeitung durch stickstoffbindende Bakterien vorbehalten

Tabelle 13. mg N/100 g trock. Boden

Nach Tagen	Gesamt-N mg	Ammoniak-N mg	Nitrifizierter N mg	Festgelegter N mg	pH-Wert
0	73,7 ± 0,3	19,1 ± 0,0	0,57 ± 0,01	0,3	7,55
6	76,3 ± 1,1	Spur	Spur	20,0	7,90
10	77,8 ± 1,1	0,28 ± 0,00	,,	19,7	7,95
13	78,0 ± 0,5	0,44 ± 0,04	0,11 ± 0,03	19,4	8,15
17	77,4 ± 0,1	0,43 ± 0,02	0,44 ± 0,00	19,1	8,20

blieb. Auch nach 10 Tagen war noch keine Nitratbildung zu beobachten. Die N-Bindung hatte weitere Fortschritte gemacht, ein Beweis, daß noch nicht alle Glukose verbraucht war. Selbst nach 17 Tagen waren die Nitratmengen noch zu gering, als daß man aus ihnen auf eine nennenswerte Nitrifikation schließen könnte. Es braucht nicht noch besonders darauf eingegangen zu werden, daß von einer Förderung der Nitrifikation durch die Glukose nichts zu sehen war.

Auf die Wiedergabe einer Reihe weiterer Versuche sei verzichtet, da sie die bisherigen Ergebnisse nur bestätigten.

Kritische Bemerkungen zur Literatur.

Nachdem meine Beobachtungen einen günstigen Einfluß der Glukose auf die Tätigkeit der Nitrifikationsorganismen im Boden nicht haben zeigen können, schien mir eine nähere kritische Nachprüfung der älteren Literatur der Mühe wert. Wie sind jene Versuche zu beurteilen, in denen man die günstige Wirkung der Glukose zum erstenmal gesehen haben will?

Die erste Beobachtung dieser Art geht meines Wissens auf Bazarewski (1906) zurück. Dieser verwendete zu seinen Versuchen einen Lehmboden, dem $(NH_4)_2SO_4$ und steigende Mengen Glukose zugesetzt wurden. Die NH_4-Salzgabe war beträchtlich, nämlich 942 mg auf 300 g Boden, = 67 mg N/100 g Boden. Angesichts dieser großen Salzmengen war es nicht verwunderlich, daß die Nitrifikation nur sehr geringe Ausmaße erreichte. Bazarewski sicherte seine Befunde nicht durch Parallelbeobachtungen. Er extrahierte für die Nitratbestimmungen die gesamte Bodenmenge eines Gefäßes und analysierte vom Filtrat zwei aliquote Teile. Er kontrollierte damit nur die Nitratbestimmung, nicht dagegen den Grad der Nitrifikation. Ein zweites Parallelgefäß war nicht vorhanden.

Hinzu kommt, daß es damals noch keine Mikromethoden gab, um derartig geringe Mengen Salpetersäure im Boden hinreichend genau zu bestimmen, wie sie Bazarewski fand. Die Werte für den Nitrat-N sind infolgedessen mit ganz erheblichen Fehlern belastet. So finden sich, um ein Beispiel zu nennen, in der Tabelle auf Seite 79 folgende Angaben:

Vorlage 30 ccm n/10 Säure	=	29,4 ccm Lauge	
zurücktitriert		28,0	und 28,4 ccm Lauge
Verbrauch		1,4	und 1,0 ccm Lauge
	=	2,01	und 1,43 mg N

Die beiden Werte weichen um etwa 30% voneinander ab. Dabei handelte es sich hier nicht einmal, wie oben schon hervorgehoben wurde, um zwei verschiedene Gefäße, sondern um die beiden aliquoten Teile ein und derselben Lösung.

Schließlich sei noch erwähnt, daß die vermeintliche Förderung der Nitrifikation erst nach 2—3 Wochen in Erscheinung trat, einer Zeit, nach der nach meinen Erfahrungen der Zucker von den Mikroorganismen des Bodens längst verarbeitet und daher aus dem Boden verschwunden ist.

Bazarewski untersuchte auch Reinkulturen von Nitrit- und Nitratbakterien in Sand auf ihr Verhalten gegenüber Glukose. Der Zucker zeigte die gleiche Wirkung wie im natürlichen Boden. Aber es lassen sich hier die gleichen Einwände erheben wie oben. Hinzu kommt, daß ein Fehler bei der Berechnung der umgesetzten NH_4-Mengen die Beurteilung erschwert. Auch erhielt der Sand durch Impfung mit großen Mengen gut arbeitender Stammkulturen gewisse Nitratmengen zugesetzt, die von Bazarewski bei der Auswertung der Versuchsergebnisse nicht in Rechnung gestellt wurden.

Coleman (1908) setzte die Untersuchungen Bazarewskis fort und benutzte die gleichen Methoden wie dieser. Auch er setzte meistens keine Parallelen an. Die ersten Analysen wurden oft erst nach 3 oder 4 Wochen vorgenommen, wodurch der gerade zu Beginn typische Verlauf der Nitrifikation der Beobachtung entging. Es ist demnach nicht verwunderlich, daß auch Coleman zu ganz widersprechenden Ergebnissen kam. Wie schlecht selbst die einzelnen Parallelen übereinstimmten und

wie wenig man aus den Werten schließen kann, dafür nur das folgende Beispiel:

	Ohne Glukose			Mit 0,05% Glukose		
Nitrat-N mg	21,96	24,12	31,72	23,55	18,56	36,30

Die Mittelwerte betragen 25,93 ± 2,96 bzw. 26.14 ± 5,29. Der Unterschied zwischen beiden liegt weit innerhalb der mittleren Schwankung. Die Schlußfolgerung Colemans, daß die Glukose die Nitratbildung im vorliegenden Versuch gefördert habe, ist demnach in keiner Weise gerechtfertigt.

Die NH_4-Salzkonzentration war noch höher als bei den Versuchen Bazarewskis, z. T. 1 g $(NH_4)_2SO_4$ auf 100 g Boden = 212 mg N. Aus dem gleichen Grunde dürfte keine Förderung der Nitrifikation bei den Versuchen mit Harnstoff und Pepton zu beobachten gewesen sein, da das sich in überreichlichen Mengen bildende freie Ammoniak den Boden vollständig vergiftete. Die Harnstoffmengen betrugen bis zu 2 g/100 g Boden = 930 mg N, also etwa 50mal mehr als bei meinen Versuchen! So kam denn Coleman beim Harnstoff zu einem völlig negativen Ergebnis.

Auch Colemans Versuche mit Reinkulturen sind wenig überzeugend. Die Kulturen waren sämtlich verunreinigt, was man an ihrem starken Glukoseverbrauch und auch daran erkennen kann, daß z. T. erhebliche N-Mengen festgelegt wurden.

In diesem Zusammenhang müssen auch die Untersuchungen Fischers (1911) genannt werden, der mit dem gleichen leichten Dahlemer Sandboden arbeitete, wie er zu meinen Untersuchungen diente. Fischer glaubte aus folgendem Versuch zu der Auffassung berechtigt zu sein, daß Glukose das Leben der Nitrifikationsorganismen im Boden günstig beeinflusse:

Nach Tagen		0	7	14	28	N-Verlust
vom zugesetzten NH_4 — N waren nitrifiziert %	ohne Glukose	4,99	7,02	7,46	11,99	11,75
	mit Glukose	5,53	6,83	6,53	16,42	5,25

Es ist zunächst auffallend, daß der Zucker erst nach 4 Wochen wirksam war, nachdem er nach meinen Beobachtungen im Dahlemer Sandboden nicht mehr vorhanden ist. Diese Tatsache allein schließt schon einen direkten Einfluß aus. Das Bild verschiebt sich jedoch sehr zugunsten der Auffassung Fischers, wenn man mit Fischer den N-Verlust in der Glukosereihe der Tätigkeit denitrifizierender Bakterien zuschreibt, in der zuckerfreien Reihe dagegen auf NH_3-Verflüchtigung zurückführt. Der denitrifizierte Stickstoff mußte naturgemäß vor seiner Entbindung in Nitratform vorgelegen haben, also aus der Nitrifikation herstammen. Nach der Ansicht Fischers wurde unter dem Einfluß der Glukose die Nitrifikation sogleich nach Versuchsbeginn derart gefördert, daß im Gegensatz zum zuckerfreien Boden NH_3-Verluste nicht eintreten konnten.

Es fragt sich dann aber, warum in der Glukosereihe, wie die obige Tabelle zeigt, die Nitratanhäufung anfangs eher schlechter als besser war. Man könnte hierauf die Antwort geben, daß in der Glukosereihe zu Anfang neben den nitrifizierenden auch schon denitrifizierende Organismen kräftig arbeiteten. In diesem Falle müßten die beobachteten N-Verluste gerade zu Beginn aufgetreten sein, was aber, wie den weiteren in der obigen Tabelle nicht mit aufgeführten Versuchsdaten zu entnehmen ist, nicht zutraf.

Somit dürfte folgende Auslegung mehr Wahrscheinlichkeit für sich haben: In Gegenwart der Glukose wurde ein großer Teil des Stickstoffs des Ammoniumsulfats zu Anfang des Versuchs festgelegt. Er entging dadurch der Verflüchtigung (als NH_3), der Nitrifikation wie auch der Denitrifikation. Im glukosefreien Boden war er jedoch vor Verlusten nicht in dem Maße geschützt. Bei der später erfolgenden Wiedermineralisierung des festgelegten Stickstoffs trat sodann die Überlegenheit der Glukosereihe in Erscheinung.

Ich möchte in diesem Zusammenhang noch auf einen anderen Versuch Fischers hinweisen, der zwar mit der vorliegenden Fragestellung nichts zu tun hat, der aber zeigt, wie man dazu gekommen ist, den Nitrifikationsorganismen im Boden andere Eigenschaften als in Reinkultur zuzuweisen.

Fischer stellte sich eine Torfabkochung her, die er zum reichlich gekalkten Dahlemer Boden gab. Er beobachtete sodann folgenden Nitrifikationsverlauf von $(NH_4)_2SO_4$:

Nach Tagen		7	14	28	N-Verlust
vom zugegebenen NH_4 — N waren nitrifiziert %	ohne Torfextrakt	9,0	10,9	30,9	52,3
	mit Torfextrakt	2,6	0,0	25,9	38,8

Man fragt sich, wie Fischer auf Grund dieser Zahlen zu der Ansicht kommen konnte, daß die Torfabkochung günstig auf die Nitrifikation gewirkt habe. Seiner Ansicht nach soll der erhebliche N-Verlust in der Reihe ohne Torfabkochung durch NH_3-Verflüchtigung entstanden sein, in der anderen Versuchsreihe dagegen wie oben bei der Glukose durch Denitrifikation. Die denitrifizierten N-Mengen mußten naturgemäß auch hier zunächst in nitrifizierter Form vorhanden gewesen sein. Auf Grund dieser allerdings unbewiesenen Anschauung kam Fischer bei der Reihe mit Zusatz des Torfauszuges zu 65% nitrifiziertem Stickstoff (25,9 + 38,8), bei der anderen Reihe dagegen nur zu 30,9%.

Anscheinend war Fischer der Auffassung — es geht dies aus seinen Angaben nicht deutlich hervor —, daß durch Adsorption im Torf das Ammoniak vor Verflüchtigung bewahrt wurde. Um so unbegreiflicher ist es, wie er, seine Annahme als zutreffend vorausgesetzt, dem Torf eine unmittelbare Wirkung auf die Nitrifikationsorganismen zuschreiben konnte. Da der Torf das Ammoniak im Boden festhielt, konnte es naturgemäß in viel größerem Umfange nitrifiziert werden.

Im übrigen deuten die oben angeführten Zahlen wieder auf N-Festlegung hin. Im Boden mit der Torfabkochung wurde ganz wie bei der Glukose der Stickstoff zunächst von den Bodenorganismen in Körpereiweiß verwandelt. Durch den Kalk war offenbar die von Natur aus schwer zer-

setzliche organische Substanz des Torfes vielen Bodenorganismen zugänglich, so daß eine erhebliche N-Festlegung die Folge war. Später wurde der Mikrobenstickstoff wieder mineralisiert, Vorgänge, wie sie in ganz gleicher Weise bei Zugabe von Glukose und $(NH_4)_2SO_4$ in Erscheinung traten.

Die Versuche Fischers haben somit nur gezeigt, daß N-Verluste im Boden vermieden werden können, wenn der Stickstoff festgelegt wird.

Zusammenfassung.

1. Zusatz von Glukose zum Boden förderte die Nitratbildung, aber nicht durch unmittelbar günstige Beeinflussung der Tätigkeit nitrifizierender Bakterien, sondern über den Umweg der Stickstoffbindung. Zunächst erfolgte eine Förderung der Tätigkeit stickstoffbindender Bakterien. Nach Erschöpfung des Zuckers wurde sodann später der Azotobakterstickstoff wieder frei und nitrifiziert.

2. In keinem Fall konnte beobachtet werden, daß der Stickstoff des $(NH_4)_2SO_4$ durch Glukosezusatz besser nitrifiziert wird, wie verschiedentlich behauptet worden ist.

3. Die Angaben der Literatur erwiesen sich bei kritischer Nachprüfung als nicht beweiskräftig. Es liegt demnach bisher kein stichhaltiger Grund vor, der dafür spräche, daß die Nitrifikationsorganismen im Boden gegenüber Glukose sich anders verhalten als in Reinkultur und daß sie im Boden besondere physiologische Fähigkeiten entwickelten.

Literatur.

Barthel, Ch., Ztschr. f. Gärungsphysiol. Bd. 4. 1914. S. 11. — Barthel, Ch., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 49. 1919. S. 382. — Bazarewski, St., Dissertation. Göttingen 1906. — Coleman, L. C., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 20. 1908. S. 401. — Conrad, J. P., Soil Science. Bd. 37. 1934. S. 179. — Engel, H., Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenkde. A. Bd. 21. 1931. S. 32. — Engel, H., Ibid. A. Bd. 27. 1932. S. 1. — Engel, H., und Kaufmann, A., Ibid. A. Bd. 29. 1933. S. 1. — Fischer, H., Landwirtschaftl. Jahrb. Bd. 41. 1911. S. 755. — Heubült, J., Planta. Bd. 8. 1929. S. 398. — Koch, A., Litzendorf, J., Krull, F., und Alves, A., Journ. f. Landwirtsch. Bd. 55. 1907. S. 355. — Temple, J. C., Ref.: Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 43. 1915. S. 481. — Waksman, S. A., Soil Science. Vol. 15. 1923. p. 241; Vol. 16. 1923. p. 55. — Winogradsky, S., „Die Nitrifikation" in: Lafar, Handb. techn. Mykologie. III. Jena 1904—1906.

Nachdruck verboten.

Ultrafilter für bakteriologische Untersuchungen.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Ozeanographischen Instituts Moskau. Leiter: Prof. W. S. Butkewitsch.]

Von **E. Dianowa** und **A. Woroschilowa.**

Mit 1 Abbildung im Text.

Bei mikroskopischen Untersuchungen und quantitativen Bestimmungen der Bakterien nach der „direkten Methode" bei solchen Objekten wie das Wasser der Flüsse, Seen, Meere u. dgl. m., in denen eine relativ geringe Zahl von Mikroorganismen vorhanden ist, muß man deren Anreicherung anstreben. Diese Aufgabe findet verschiedene Lösungen: im wesentlichen kommen folgende Verfahren in Frage:

1. Sedimentierung der im Wasser vorhandenen Bakterien durch Eisen-Aluminium- u. a. Salze mit nachfolgender Vorbereitung eines Ausstrichs aus dem Sediment.
2. Zentrifugieren der Flüssigkeit mit nachfolgender Untersuchung des Sediments.
3. Filtration des Wassers durch ein Ultrafilter und Zählung der Mikroorganismen in dem konzentrierten, auf einen Objektträger übertragenen Material (Cholodny).
4. Konzentrierung der Bakterien durch sukzessives Auftragen und Verdunsten von 1 ccm der untersuchten Flüssigkeit auf einer 1 qcm-Fläche des Objektträgers (Issatschenko).
5. Konzentrierung der Bakterien durch Verdunstung des untersuchten Wassers im Kolben bei einer Temperatur von 35—40° C und verringertem Druck (Kusnetzow und Korsinkin).

Alle diese Methoden besitzen einen ihnen eigentümlichen Nachteil außer der unvollständigen Sedimentation der Bakterien beim Zentrifugieren und bei der Anwendung koagulierender Stoffe, und zwar ist dies ihre relative Kompliziertheit und die eine große Sorgfältigkeit der Ausführung erfordernde und in hohem Maße die Präzision der Resultate beeinflussende Vorbereitung des Ausstrichs.

Ein sehr glücklicher Ausweg aus diesen Schwierigkeiten wurde von Rasumow vorgeschlagen. Seiner Methode der quantitativen Zählung der Bakterien im Wasser nach dem „direkten" Verfahren legt dieser Forscher die von Cholodny vorgeschlagene Methode der Anreicherung der Bakterien mittels Filtrierens zugrunde. Als Filter verwendet er das Membranfilter, das von Bachmann zur Untersuchung des Nannoplanktons empfohlen wird. Das Wesen der Rasumowschen Methode besteht darin, daß das ganze untersuchte Wasser auf dem Ultrafilter abfiltriert, das hiernach getrocknete Filter mit Zedernöl geklärt und die weitere mikroskopische Untersuchung der Mikroorganismen auf dem Filter selbst vorgenommen wird. Somit fallen alle mit der Vorbereitung des Ausstrichs vorhandenen Operationen aus. Die Methode ist äußerst einfach, leicht ausführbar und liefert dabei gute Resultate. Die Methode hat auch einen Nachteil, auf den ihr Autor selbst hinweist, nämlich eine, wenn auch relativ geringfügige Permeabilität der Membran für Bakterien und eine ungleichmäßige Netzstruktur,

welche eine Ungleichmäßigkeit der Verteilung der auf ihrer Oberfläche zurückbleibenden Bakterien bedingt; außerdem verteilen sich die zurückgehaltenen Mikroorganismen auf der unebenen Oberfläche des Filters nicht in einer Fläche, was die mikroskopische Untersuchung des Präparats sehr erschwert.

Die Handlichkeit der für diese Methode erforderlichen Apparatur, die Einfachheit der Ausführung und ihre größere Präzision im Vergleich zu den anderen analogen Verfahren der Mikroorganismenzählung, all dies macht sie sehr wertvoll, insbesondere bei bakteriologischen Massenuntersuchungen des Wassers, die äußerst notwendig sind zur Lösung der Aufgaben, welche der Seebakteriologie gestellt werden. Die Möglichkeit ihrer weiten Verwendung auf diesem Gebiete in Rücksicht ziehend, haben wir den Versuch gemacht, die oben erwähnten Nachteile der Membran zu beseitigen.

Die Forderungen, welchen das für unsere Zwecke bestimmte Ultrafilter entsprechen muß, bestehen in folgendem:

1. vor allem muß das Ultrafilter alle Bakterien auf seiner Oberfläche zurückhalten;

2. seine Struktur muß einförmig sein, um eine möglichst gleichmäßige Verteilung der Bakterien auf seiner Oberfläche zu gewährleisten,

3. es darf die Farben, mit denen die Bakterien bei der Darstellung des Präparats gefärbt werden, nicht aufnehmen;

4. zwecks mikroskopischer Untersuchung des zurückgehaltenen Materials auf dem Filter selbst muß es gut und gleichmäßig geklärt werden vermittels der oder jener Stoffe;

5. die Oberfläche des Filters darf nicht rauh sein;

6. mußte Wert darauf gelegt werden, daß die Vervollkommnungen des Ultrafilters den Prozeß des Filtrierens nicht komplizierter machten und daß das Filtrieren in möglichst einfacher Weise verlaufe und unter den Bedingungen der Expeditionsarbeit leicht ausführbar sei.

Zur Grundlage der Ultrafilter, die bei chemischen Untersuchungen verwendet werden, wird gewöhnlich das Filtrierpapier genommen; solche Filter vermögen nicht die für unsere Zwecke erforderliche Durchsichtigkeit zu liefern. Die Ultrafilter von Aschcshov und Zsigmondy und Bachmann werden unmittelbar auf dem Glas ohne Papier dargestellt, jedoch besitzen die ersteren, ebenso wie die Filter mit Papier, jenen Nachteil, daß sie nicht durchsichtig gemacht werden können, und die zweiten weisen eine ungleichartige Struktur auf. Daher erwiesen sich auch diese Filter als ungeeignet für unsere Ziele.

Zusammensetzung der Membran.

Auf der Suche nach einem Ultrafilter, das den oben aufgezählten Forderungen entsprechen würde, haben wir verschiedene Stoffe auf ihre Eigenschaften als Lösungsmittel und Koagulatore der Nitrozellulose untersucht. Letztere wurde von uns in der Form von Photo- und Kinofilmen gewählt. Was die Lösungsmittel und die Koagulatore betrifft, so mußten sie vor allem gut miteinander mischbar sein; außerdem mußten die Lösungsmittel eine größere Dampfspannung besitzen als die Koagulatoren, derweise, daß mit der Verdunstung der ersteren die relative Konzentration der letzteren in der Lösung anwachse. Diese letztere Bedingung ist notwendig, damit die Nitrozellulose bei der Darstellung des Filters koaguliert werde; die

Koagulierung bildet das wichtigste Moment bei der Herstellung einer porösen filtrierenden Masse.

Azeton, Eisessig und der Essigamyl- und Essigäthylester wurden auf ihre Eigenschaften als Lösungsmittel untersucht; als Koagulatore-verschiedene Alkohole: Methyl-, Äthyl-, Propyl-, Butyl-, Amyl- und Oktylalkohol und außerdem noch Xylol, Toluol und Terpentinöl. Wenn man nur ein Lösungsmittel und einen diesem hinsichtlich des Siedepunkts entsprechenden Koagulator nimmt, erhält man ein Ultrafilter mit einer ziemlich scharf ausgeprägten ungleichmäßigen, meist zellenförmigen Struktur, weshalb die verschiedenen Stellen der auf eine solche Weise hergestellten Membran verschiedenen Anteil an der Filtration haben (die dichteren Kanten der Zellen sind weniger durchlässig). Um eine solche Ungleichartigkeit zu vermeiden, haben wir eine Mischung von zwei Lösungsmitteln angewandt, die eine verschiedene Verdunstungsgeschwindigkeit besitzen. Als solche Lösungsmittel wurde Azeton und Essigäthylester verwendet. Aus der Zahl der Koagulatoren, wählten wir schließlich den Isoamylalkohol, da im Vergleich zu diesem alle anderen, den aufgezählten Bedingungen entsprechenden Koagulatoren schlechtere Resultate geliefert haben. Die bei der Mischung aus Azeton + Essigäthylester als Lösungsmittel und des Amylalkohols als Koagulator bei einem bestimmten Verhältnis dieser Komponente erhaltenen Resultate befriedigen alle Forderungen, denen ein bakteriologisches Filter betreffender Bestimmung entsprechen soll. Das erhaltene Ultrafilter hatte eine einförmige Struktur, klärte sich gut mit Zedernöl, noch besser mit Kanadabalsam und einwandfrei mit Nelkenöl (sich in diesem auflösend), hatte eine ebene, glänzende Oberfläche, hielt vortrefflich die kleinsten Bakterien auf und nahm die sauren Farbstoffe nicht auf.

Als Ausgangsmaterial diente entweder ein Photo- oder ein Kinofilm. Der letztere ist vorzuziehen, da er sich schneller auflöst. Die Emulsion wird von dem Film mit warmem Wasser abgespült und der Film wird sorgfältig mit reinem Wasser gewaschen.

Einfluß der Temperatur und der Luftfeuchtigkeit auf die Permeabilität der Membran. Rezeptur der Membran.

Die aufgezählten Ingredientien wurden zur Darstellung der Membran in einem bestimmten Verhältnis genommen, auf welches wir in unserer früheren Mitteilung hinwiesen. Im weiteren stellte es sich aber heraus, daß dieses Rezept verändert werden mußte, da wir bei den vorhergegangenen Versuchen den Einfluß der Temperatur und der Luftfeuchtigkeit des Raumes, in dem die Membran vorbereitet wurde, nicht genügend in Rücksicht gezogen haben — dies aber ist von großem Einfluß auf die Permeabilität des Ultrafilters. Je höher die Temperatur und je trockener die Luft, um so dichter ist die erhaltene Membran, und umgekehrt wird mit dem Steigen der Luftfeuchtigkeit und dem Sinken der Temperatur die Permeabilität der Membran größer. Die geeignetste Temperatur für die Darstellung der Membranen nach unserem Verfahren ist die von 17—18° C, die optimale relative Feuchtigkeit 55—50%. Doch die Schaffung der für die Darstellung von Membranen bestimmter Dichten geeignetsten Feuchtigkeitsgrade erfordert eine zu komplizierte Apparatur. Viel bequemer ist ein einfacheres Verfahren zur Regulierung der Permeabilität der Membranen, und zwar die Zugabe verschiedener Mengen Wassers in die Lösung selbst,

aus der die Membran hergestellt wird. Unsere Versuche mit verschiedenen Wassermengen haben gezeigt, daß gute Resultate bei der Zugabe relativ kleiner Dosen erhalten werden, namentlich in Mengen von 3—6% der entsprechenden Lösungsmittel. Anfangs gaben wir das Wasser in eine bereits vorbereitete Lösung des Kinofilms, dann aber in den Essigäthylester; doch das beste Resultat erhielt man beim Zugießen des Wassers zum Azeton. Ohne die Gleichförmigkeit der Membranstruktur anzugreifen, wird die Membran dadurch gut durchlässig gemacht; dabei verliert sie aber ihre Fähigkeit, die Bakterien aufzuhalten, nicht. Die Filtrationsgeschwindigkeit wächst mit der Vergrößerung der Menge des zugegebenen Wassers.

Welches ist nun das beste Verhältnis zwischen den Bestandteilen der Membran? Selbstverständlich kann man von einer konstanten Zusammensetzung der Lösung nicht reden, sofern die Temperatur und der Feuchtigkeitsgrad der umgebenden Atmosphäre (und zugleich mit der Temperatur auch die Dampfspannung der flüssigen Bestandteile der Membran) Schwankungen ausgesetzt ist. Daher erfordert das vorgeschlagene Rezept gewisse Optimalbedingungen (der Temperatur und Feuchtigkeit) bei der Darstellung der Membran; bei Veränderung dieser Bedingungen wird auch ein anderes Verhältnis zwischen den verwendeten Komponenten gewählt.

Das Rezept, welches wir bei der Darstellung der Membranfilter benutzen, setzt sich aus folgenden Teilen zusammen:

9 g eines Kinofilms (Agfa oder eines in der UdSSR hergestellten);
64 ccm Azetons mit zugegebenem destillierten Wasser in einer Menge von 5 –10%;
36 ccm des Essig-Äthyl-Esters;
55—60 ccm des Isoamylalkohols.

Tab. 1. Filtrationsgeschwindigkeit von 200 ccm Wasser mit B. prodigiosum (4700 Keime in 1 ccm) durch Ultrafiltermembran von 2 cm Durchmesser bei Verdünnung bis zu 30 cm Quecksilbersäule. Bedingungen bei Herstellung der Membranen: t° 17° C, relative Luftfeuchtigkeit 55%.

Menge von Amylalkohol und Wassergehalt des Azetons		Filtrationsgeschwindigkeit in Min.	Prüfung des Filtrats auf Sterilität
Amylalkohol	Wasser		
56%	5%	7 —12	steril
56%	6%	7 —10	„
56%	7%	5 —	„
56%	8%	3 — 8	„
56%	9%	3 — $5^1/_2$	„
56%	10%	$2^1/_2$— 3	„
56%	12%		70 Bakt. in 1 ccm

Wenn man eine Verringerung der Permeabilität der Membran bzw. eine grobkörnigere Membran erhalten will, müssen die Menge des Isoamylalkohols und der Prozentsatz des Wassers im Azeton in den oben angegebenen Grenzen vergrößert werden, da die Permeabilität der Membran in beträchtlicher Weise durch die Menge des in der Lösung vorhandenen Koagulators bestimmt (reguliert) wird. Das Anwachsen der Wassermenge erzeugt einen größeren Effekt als die Vergrößerung der Menge des Isoamylalkohols. In welchem Ausmaße die Permeabilität der Membran hiervon abhängig ist, zeigen die Angaben der Tabellen. Daten über die Fähigkeit

der Membran, die Bakterien aufzuhalten, sind ebenfalls in unseren Tabellen angeführt. Die letzteren Daten wurden mittels Filtrierens von 200 ccm Leitungswasser erhalten, dem 1 ccm einer Bouillonkultur des B. prodigiosum zugesetzt worden war. Das Filtrat wurde auf seine Sterilität untersucht (Tab. 1).

Aus diesen Daten ist ersichtlich, in welchem Ausmaße die im Azeton vorhandene Wassermenge die Filtrationsgeschwindigkeit zu steigern vermag und daß die selbst bis zu einer Geschwindigkeit von 200 ccm in 2½ Min. gebrachte Filtration dennoch ein steriles Filtrat liefert. Folglich kann man ganz ruhig das Wasser in einer Menge von 10% zu dem Azeton hinzugeben. Die Zugabe von Wasser in einer Menge von 12% bewirkt unter den gegebenen Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen eine solche Porosität der Membran, daß sie nicht mehr fähig ist, die Bakterien vollständig zurückzuhalten.

Das Sinken der relativen Luftfeuchtigkeit bis auf 50% bei derselben Temperatur blieb ohne großen Einfluß auf die Permeabilität der Membran.

Größer war in dieser Hinsicht die Wirkung bei Veränderung der Temperatur der Umgebung. Einige Angaben betreffs dieser Frage führen wir weiter unten an. Die Daten zeigen die Zeit des Durchlaufens von 200 ccm Wasser durch ein Ultrafilter von 2 cm Durchmesser an bei einer Luftverdünnung entsprechend dem Druck einer Quecksilbersäule von 30 cm Höhe (Tab. 2).

Tabelle 2.

Menge von Amylalkohol und Wassergehalt des Azetons		t° C und relative Luftfeuchtigkeit bei Herstellung der Membranen											
		6°		11°		13° 52%		18° 42%		20° 42%		24° 40%	
Amylalkohol	Wasser	Min.	Sek.	Min.	Sek.	Min.	Sek.	Min.	Sek.	Min.	Sek.	Min.	Sek.
55%	5%	2	40	4		4	10	7	30	7	40	77	
55%	8%	—		—		—		—		2	30	24	30
55%	10%	1	50	2	17	—		2	25	2	28	12	40

Unter Außenbedingungen, welche zur Bildung von schwer durchlässigen Membranen führen, muß man, um die nötige gute Permeabilität zu bewahren, ein mehr hydratisiertes Azeton anwenden, wobei man seinen Wassergehalt vielleicht auch über 10% erhöhen kann. Wir haben Membranen hergestellt mit 14proz. Wassergehalt des Azetons — die erhaltenen Membranen waren sehr gut, doch vom 12proz. Wassergehalt ab war das Filtrat nicht mehr steril, d. h. die Bakterien passierten die Membran. Daß unter Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen, welche die Bildung von dichteren Filtern begünstigen, die Skala der Membrandurchlässigkeit und zugleich auch der sterilisierenden Fähigkeiten dieser Membran sich entsprechend verschieben wird, ist selbstverständlich, so daß die Anwendung eines Azetons mit hohem Wassergehalt in diesem Fall eine zwar noch permeable, doch für die Bakterien undurchdringliche Membran ergeben wird. Neuerdings ist es zu empfehlen, bei der Herstellung der Membranen die optimale Temperatur von 17—18° C zu wählen.

Bei eben erwähnter Temperatur und der relativen Luftfeuchtigkeit von 50—55% fiel unsere Wahl auf das Rezept mit dem 5—6proz. Wasser-

gehalt des Azetons; bei abnehmender Feuchtigkeit muß die Menge des Wassers im Azeton bis auf 8—10% erhöht werden.

Unter Arbeitsbedingungen, unter denen es unmöglich ist, die Luftfeuchtigkeit zu bestimmen, ist zu empfehlen, einen Orientierungsversuch anzustellen derart, daß die mit dem Azeton von verschiedenem Wassergehalt hergestellten Filter ausgegossen werden. Es genügen hierfür ganz kleine Mengen der Lösung. Wir nehmen dazu folgende Mengen: 0,45 g Film + 3,2 ccm des Azetons mit 5—10% Wasser + 1,8 ccm Essigäthylester + 2,8 ccm Amylalkohol. Fünf solche Portionen mit variierendem Wassergehalt des Azetons — im Bereiche von 5—10% — werden 5 Membranen verschiedener Permeabilität ergeben, aus deren Zahl jene gewählt wird, die hinsichtlich der Geschwindigkeit der Filtration am besten paßt. Zwecks Aufzeichnen dieser Skala kann man auch zweimal kleinere Portionen nehmen.

Einfluß der Qualität des Kinofilms auf die Permeabilität der Membran.

Die Permeabilität der Membran hängt auch noch von der Menge und der Qualität des Films ab. Bei der Festsetzung der Menge des zur Herstellung der Membran notwendigen Films gingen wir von einer festen, nicht brüchigen Membran aus, um die Möglichkeit ihres Zerreißens nicht befürchten zu brauchen. Dies ist der Grund, warum wir die Menge des Films bis auf 9% steigerten. In manchen Fällen mußte man diesen Prozentsatz verringern (s. weiter unten). Die Qualität des Kinofilms beeinflußt sowohl die Permeabilität der Membran als auch den Glanz derselben. Es könnte scheinen, daß der Ersatz des Kinofilms durch eine reine Nitrozellulose bestimmter Art uns von einer solchen Abhängigkeit befreien müßte, doch liefert dieser Ersatz in Wirklichkeit ebenfalls keine vollkommene Garantie für die Konstanz der Lösungszusammensetzung. So weist z. B. Aschesbow, der mit reiner Nitrozellulose gearbeitet hat, darauf hin, daß Filmproben ein und derselben Marke, bei voller Analogie der Herstellungsbedingungen, Membranen ergeben haben, die bezüglich der Permeabilität sich bis auf 25% voneinander unterschieden. Außerdem sind, nach unseren Beobachtungen, die aus reiner Nitrozellulose hergestellten Ultrafilter brüchiger als die, welche aus Kinofilmen gemacht sind. Deshalb wählten wir auch den Kinofilm.

Es wurden Kinofilme folgender Firmen untersucht: Kodak, Agfa, Filme, die bei uns in der UdSSR hergestellt werden, und Filme von Edwards. Sie zeichnen sich durch folgendes aus:

1. Der Kinofilm der Firma Kodak liefert eine gute, doch zu dicke Membran; wenn wir diesen anwandten, verringerten wir den Gehalt des Films in der Lösung bis 7%. Außerdem ist der Glanz der Membran auf ihrer zum Glas gerichteten Seite (s. weiter unten die Herstellungstechnik) nicht sehr dauerhaft. Daher nahmen wir nach Herstellung der Membran aus diesem Film von dieser den erwähnten unbeständigen Glanz ab. Darunter bleibt ein weniger scharfer, doch dauerhafter Glanz. Wir nehmen diese Operation deshalb vor, weil der scharfe Glanz die Permeabilität des Filters verringert und außerdem dank seiner Brüchigkeit bei unvorsichtiger Behandlung stellenweise abbrechen und dadurch eine Ungleichförmigkeit der Durchdringlichkeit des Filters bewirken kann.

2. Der Kinofilm der Firma Agfa, mit dem wir am meisten gearbeitet haben, liefert eine Membran mit einem noch weniger beständigen Glanz

als der Kodak-Film. Dieser scharfe, doch unbeständige Glanz wird ebenfalls entfernt. Die Konzentration dieses Kinofilms bei der Membranherstellung beträgt 9 %.

3. Der in der UdSSR hergestellte Film des Photo-Chim-Trusts ist seinen Eigenschaften nach dem Film der Firma Agfa sehr nahe. Daher verfuhren wir mit ihm in jeder Hinsicht wie mit dem Agfa-Film, d. h. wir nahmen ihn in einer Menge von 9% und entfernten von der erhaltenen Membran, unbedingt, den unbeständigen Glanz.

4. Der Film der Firma Edwards liefert eine Membran mit sehr dauerhaftem Glanz und einer im Vergleich zu anderen Filmen geringeren Permeabilität. Daher verwendeten wir, wenn wir mit diesem Film arbeiteten, ein Azeton mit größerem — bis 9 oder 10% — Wassergehalt. Obwohl die aus dem Edwardschen Film dargestellte Membran dünner ist als die aus dem Kodakschen gemachte, haben wir dennoch seine Menge in der Lösung bis auf 7% herabgedrückt, da ein höherer Prozentsatz eine schwere Durchdringlichkeit der Membran bewirkt.

Veränderung der Geschwindigkeit der Filtration in Abhängigkeit von der Menge der filtrierten Flüssigkeit.

Es sind hier noch einige Angaben über die Menge Wasser angeführt, welche durch ein und dasselbe Ultrafilter durchgelassen werden kann. Die oben angeführte Filtrationsgeschwindigkeit (für reines Wasser) wird, selbstverständlich, von der Zusammensetzung der Flüssigkeit abhängen und sich mit der Zugabe neuer Portionen verändern. Die Kurve des Sinkens der Filtrationsgeschwindigkeit hängt von dem Grad der Verunreinigung des Wassers ab. Je schmutziger das Wasser, um so schneller nimmt die Filtrationsgeschwindigkeit ab und eine um so kleinere absolute Menge der Flüssigkeit kann durch diese Membran durchgelassen werden. Die Filtrationsgeschwindigkeit des Moskauer Leitungswassers nimmt sehr allmählich ab, wie aus folgender Tabelle zu sehen ist (Tab. 3).

Tab. 3. Filtrationsgeschwindigkeit der nachfolgenden Portionen je 200 ccm des Wassers der Moskauer Wasserleitung in Minuten. Durchmesser des Filters 2 cm. Verdunnung bis zu 30 cm Quecksilbersäule.

Die Membran verschiedener Permeabilität	1. 200 ccm	2. 200 ccm	3. 200 ccm
a	6	14	21
b	5½	12	15
c	4	9	9
d	4	9	9

Doch einige Wässer, sowohl fließende als auch stauende, enthalten schleimige Stoffe[1]), die sich auf der Oberfläche des Ultrafilters ansammeln und dadurch die weitere Filtration in hohem Maße erschweren. In solchen Fällen ist das Fallen der Filtrationsgeschwindigkeit stärker. Man kann aber

[1]) R. Zsigmondy, Zeitschr. für Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. 102. 1924.

diese Schlammschicht von der Membranoberfläche entfernen und dasselbe Filter mehrere Male zum Filtrieren gebrauchen.

Die Technik der Herstellung der Ultrafilter.

1. Eine bestimmte abgewogene Menge vom Kinofilm wird in ein Kölbchen oder Fläschchen mit eingeschliffenen oder Korkstopfen gebracht und eine entsprechende Menge von Azeton und Essigäthylester zugegeben. Der Film darf nicht zerkleinert werden, um seine Oberfläche nicht zu verkleinern, denn der zerkleinerte Film ballt sich in der Mischung der Lösungsmittel schnell zu einem Klumpen zusammen, was seine Auflösung sehr stark verzögert. Dem Azeton wird vorher die nötige Menge Wassers zugesetzt.

2. Wenn der Kinofilm ganz aufgelöst ist (einige Proben davon lösten sich nicht restlos auf und ergaben unlösliche Fäserchen), wird die im Rezept angegebene Menge Amylalkohol hinzugefügt und tüchtig durchgemischt.

3. Die Lösung wird filtriert, doch nicht in einen einzigen Kolben, sondern in kleinen Mengen von 10—12 ccm in einzelne Kölbchen (den Grund dafür siehe weiter unten). Eine solche Menge kann bequem mittels einer Pipette mit weiter Öffnung entnommen werden. Die Filtration geschieht durch ein kleines in den Trichter hineingelegtes Stückchen Watte. Die Watte darf nur leicht aufgedrückt werden, derweise, daß sie nicht emporschwimmt, doch keinesfalls darf sie hineingepreßt werden, da dies den Filtrationsprozeß sehr stark in die Länge zieht, was wiederum infolge einer gewissen unumgänglichen Verdunstung leichtflüchtiger Flüssigkeiten zu einer Störung des Verhältnisses zwischen den Bestandteilen der Lösung führen kann.

Um einer starken Verdunstung vorzubeugen, müssen die Trichter während des Filtrierens unbedingt mit Uhrgläsern bedeckt werden.

4. Das Filtrat wird ruhig stehen gelassen bis zu dem Augenblick, wo die in ihm vorhandenen Luftblasen gänzlich verschwinden (sonst kann das Filter löcherig werden).

5. Der Inhalt jedes Probiergläschens oder Kölbchens wird vorsichtig auf die Oberfläche einer Glasplatte ausgegossen. Diese soll eben, ohne Kratzstriche und nicht rauh sein; sie muß gut gewaschen, entfettet und trockengewischt und in vollkommen horizontaler Lage aufgestellt werden; außerdem muß aufgepaßt werden, daß die Glasplatte überall die gleiche Temperatur besitzt, also in der Nähe des Glases keine Wärmequelle vorhanden ist. Beim Ausgießen der Lösung wird das Kölbchen oder Probiergläschen möglichst nah an die Oberfläche herangebracht, so daß es die Glasoberfläche beinahe berührt (damit keine Blasen entstehen); der Inhalt jedes Kölbchens muß an einer Stelle ausgegossen werden, doch derart, daß die einzelnen Portionen nicht zusammenfließen. Die Flüssigkeit zerfließt ganz von selbst und bildet eine ebene Scheibe, wenn das Glas rein und die Oberfläche horizontal ist. Aus 10—12 ccm der Lösung erhält man eine Scheibe von 9—10 cm Durchmesser. Es ist zu empfehlen, kleine Mengen der Lösung aufzugießen, denn sonst können bei gleichzeitigem Ausgießen einer großen Menge die Ränder einer großen Scheibe dicker werden.

Das Ausgießen der Masse ist unbedingt in einem Raume vorzunehmen, der vor Stößen, Luftbewegung und Staub geschützt

ist; die Filter werden an der Luft allmählich trocknen gelassen. Die abends ausgegossenen Filter sind am nächsten Morgen fertig.

6. Wenn die Membranen vollkommen trocken geworden sind (sie werden dann weiß wie Schreibpapier), werden sie von der Oberfläche her reichlich mit Wasser benetzt, wonach sie sich leicht vom Glas loslösen.

7. Die vom Glas losgelösten, mit Wasser benetzten Filter werden zum Trocknen auf Filtrierpapier gelegt. Die Seite des Filters, die zum Glas gewendet gewesen war, hat einen scharfen unbeständigen Glanz. Nach vollkommener Austrocknung des Filters wird dieser mit Wildleder oder einem dichten Wattebausch abgewischt. Es bleibt ein weniger scharfer, doch dauerhafter Glanz zurück; diese Seite der Membran dient als Oberseite und wird, um Verwechslungen auszuschließen, am Rande gezeichnet.

8. Aus den auf diese Weise hergestellten Membranscheiben schneidet man mit der Schere oder mittels einer Schablone Filter der gewünschten Größe heraus. Die Filter können trocken aufbewahrt werden.

Der Prozeß des Filtrierens.

Man kann zum Filtrieren die Vorrichtung von Seitz ausnützen, die mit Gummistöpsel in den Bunsenschen Kolben eingesteckt wird. In der Bakteriologischen Abteilung des Moskauer Ozeanographischen Instituts sind gegenwärtig Apparate von einer etwas anderen Konstruktion im Betrieb. Der Apparat besteht, wie auch bei Seitz, aus zwei Teilen, die fest aneinandergepreßt werden, doch nicht mittels 3 Schrauben, sondern nur mit einer Schraubenmutter. Diese Schraubenmutter, die mit einer Borte versehen ist, wird auf den oberen Teil des Apparates aufgesetzt und auf das Gewinde des unteren Teils geschraubt. Diese Vorrichtung erleichtert die Montierung und Demontierung des Apparates und schützt vor der bei 3 Schrauben möglichen ungleichmäßigen Einspannung. Außerdem ist das schmale Röhrchen des unteren Teils des Apparates zweiwandig; die beiden Wände sind am Ende des Röhrchens zusammengelötet. Es sind also im Röhrchen zwei Hohlräume vorhanden: ein innerer zum Ablaufen der abfiltrierten Flüssigkeit in den

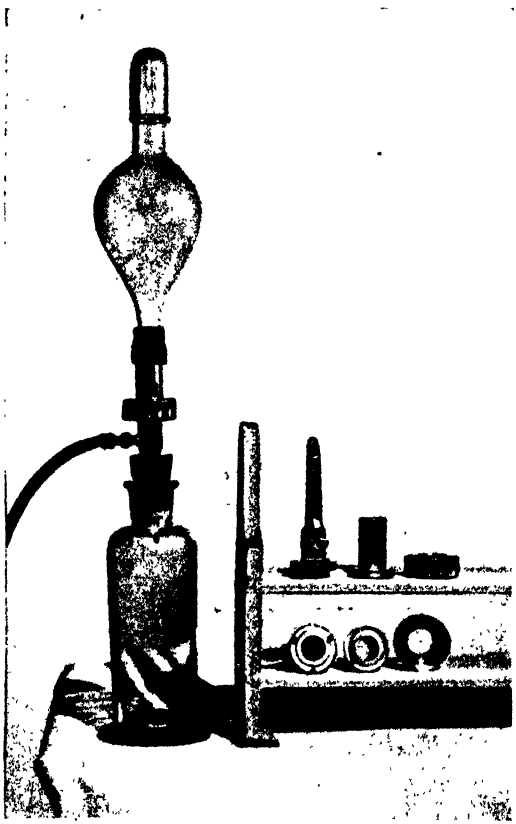


Abb. 1. Der Apparat für Filtrierung.

Empfänger und ein anderer, der unten mit kleinen Öffnungen in der äußeren Wand versehen ist und zum Absaugen der Luft aus dem Empfänger dient, in welchen das Röhrchen auf einem Pfropf eingesteckt ist. Auf diese Weise kann diese Vorrichtung vermittels eines Gummistöpsels in einen beliebigen Kolben oder eine Flasche ohne Tubus hineingesteckt werden.

1. Auf das Netz des Apparates werden 2 Scheiben gewöhnlichen Filtrierpapiers aufgelegt (damit das Netz sich auf dem Ultrafilter nicht abpräge); darauf kommt das Ultrafilter der Weise, daß seine Glanzoberfläche, d. h. jene Oberfläche, die bei der Herstellung der Membran zu der Glasplatte gewandt war, nach oben gerichtet ist.

2. Da die Membranen sehr leicht elektrisiert werden, bleiben an ihnen leicht kleine Stäubchen kleben (wenn sie trocken aufbewahrt werden); es wird daher empfohlen, die Filter vor Gebrauch in einem Wasserstrahl auszuwaschen.

3. Bei zahlenmäßiger Aufnahme der Mikroorganismen ist wichtig, daß das abzufiltrierende Material auf dem Filter gleichmäßig verteilt werde, darum muß darauf Wert gelegt werden, daß vor Beginn des Filtrierens das Filter völlig mit Wasser benetzt werde; nur unter dieser Bedingung wird von Anfang an die ganze Oberfläche des Filters am Prozeß des Filtrierens gleichmäßig teilnehmen.

Solange das Filter nicht benetzt ist, filtriert es nicht, doch mit dem Benetzen wächst seine Wasserdurchdringlichkeit an; das völlig benetzte Filter filtriert ziemlich leicht, sogar bei schwacher Verdünnung, so daß man ohne Pumpe filtrieren kann, unter Absaugen der Luft mit dem Munde. Das erzielte Vakuum kann durch Schließen des Hahnes erhalten bleiben.

Dieser Umstand ermöglicht die Ausführung des Filtrierens bei Expeditionsarbeiten, wo keine Pumpe zur Verfügung ist.

Mit kaltem Wasser darf das Filter nicht benetzt werden; es wird dazu entweder Formalin oder heißes Wasser genommen.

4. Wenn man bei der Vorbereitung der Präparate nicht die Absicht hat, lebendiges Material zu erhalten, kann man eine völlige Benetzung des Filters leicht und schnell durch Anwendung des Formalins (35%) erzielen, das tropfenweise aus einer Pipette über die Oberfläche des Filters verteilt wird.

5. Wenn das abfiltrierte Material im lebenden Zustande erhalten werden soll, wird das Filter durch Kochen in Wasser über einem Bunsenbrenner, im Autoklaven oder im Kochschen Apparat benetzt. In letzterem Fall wird das Filter gleichzeitig benetzt und sterilisiert. Die in dieser Weise sterilisierten Membranen können in diesem Zustande in demselben Gefäß steril aufbewahrt werden.

6. Wenn das Filter restlos benetzt ist, schreitet man zum Filtrieren des zu untersuchenden Materials. Je nach der in diesem vorhandenen Anzahl der Mikroorganismen kann man größere oder kleinere Mengen filtrieren, Filter größeren oder kleineren Durchmessers wählen oder kleinere oder größere Apparate zum Filtrieren nehmen. Bei quantitativen Bestimmungen der Bakterien im Wasser der nordischen Seen beschränkt man sich in unserem Institut auf das Filtrieren von 100 ccm durch eine Membran von 1½ cm Durchmesser. A. S. Rasumow empfiehlt bei der Bestimmung der Gesamtzahl der Bakterien in Süßwässern folgende Mengen filtrieren zu lassen:

Wasser artesischer Brunnen = 50 ccm; reiner Seen = 25—50 ccm; reiner Flüsse = 10—20 ccm; die Abwässer müssen aber verdünnt werden.

Herstellung des Präparats.

Alle weiteren Operationen der Herstellung des Präparats werden auf dem Ultrafilter selbst vorgenommen.

1. Zunächst wird das abfiltrierte Material mit Formalin fixiert (wenn dieses nicht zuvor schon der zu filtrierenden Flüssigkeit hinzugefügt worden war). Äthylalkohol verwenden wir nicht, da bewiesen worden ist, daß die Membran nach der Behandlung mit diesem Reagens für Farben empfänglicher wird.

2. Bei der Fixierung mittels Formalin passiert dieses das Ultrafilter, wonach das Präparat mit reinem Wasser durchgespült wird.

3. Die Färbung des Präparats mit Erythrosin geschieht ebenfalls auf dem Filter. Die Dauer der Einwirkung der Farbe kann sich je nach dem Untersuchungsobjekt verändern (von 30 Min. bis zu 1 Std., vielleicht sogar noch mehr). Wenn die Farbe nicht auf dem Filter bleibt, diesen auch ohne Vakuum passiert, kann man dies durch ein leichtes und vorsichtiges Erhöhen des Druckes im Empfänger der Flüssigkeit beseitigen. Der Druck kann darauf ebenso wie das Vakuum durch Schließen des Hahns erhalten bleiben.

4. Nach vollendeter Färbung wird die Erythrosinlösung abgesaugt und der Apparat mit Wasser so lange gespült, bis das abfließende Wasser farblos wird. Man könnte zwecks Färbung der Bakterien das Ultrafilter vom Trichter nehmen und es in die Farbe tauchen, doch besitzt das Färben auf dem Trichter mit nachfolgendem Spülen mittels Durchsaugen des Wassers durch die Membran folgende Vorteile: 1. die Möglichkeit des Fortspülens der Bakterien von der Membran, wenn diese in die Farblösung einfach eingetaucht wird, ohne daß vorher entsprechende Maßnahmen zur Fixierung der Mikroorganismen darauf (z. B. durch Ankleben mit Agar) getroffen wurden, ist ausgeschlossen, und 2. werden alle Poren des Filters, und dies ist sehr wichtig, bei einer solchen Färbungs- und Ausspülungsmaßnahme von der Farbe befreit, so daß die Membran nach einer solchen Behandlung einen fast farblosen Grund darstellt, auf dem die gefärbten Bakterien sich scharf abheben.

Es ist selbstverständlich notwendig, daß alle bei Anwendung dieser Methodik gebrauchten Flüssigkeiten vollständig klar sein müssen, d. h. weder Bakterien noch andere darin suspendierte Körper enthalten dürfen. Deshalb müssen alle Flüssigkeiten, die bei der Fixierung, Färbung und Auswaschung des Präparats angewandt werden, vorher durch ein ebensolches Ultrafilter filtriert werden, wie das, durch welches die Mikroorganismen filtriert werden. Diese Operation bereitet keine Schwierigkeiten, da alle Reagentien und das Wasser vorher durchfiltriert und in für die weitere Arbeit notwendigen Mengen vorbereitet werden können.

5. Nach Beendigung aller obenbeschriebenen Operationen wird das Ultrafilter nebst dem sich auf ihm befindenden Präparat von dem Trichter, auf dem die Filtration ausgeführt wurde, abgenommen und in der Luft getrocknet. Unsere Membranen krümmen sich nicht und bleiben flach. Die Präparate können zwischen zwei Objektgläsern aufbewahrt werden, wobei

diese letzteren mittels eines Gummiringes, das auf die Glasränder aufgezogen ist, miteinander festgehalten werden.

6. Um das Präparat mikroskopisch untersuchen zu können, muß man die weiße, schreibpapierartige Membran in eine durchsichtige, glasartige verwandeln. Dies wird leicht durch Tränken mit Zedernöl, Kanadabalsam oder Nelkenöl erreicht (man muß im Auge haben, daß in letzterem die Membran nicht nur durchsichtig wird, sondern sich auch auflöst). Es wird dazu entweder das ganze Filter, oder ein aus ihm ausgeschnittener Teil in eines der genannten Klärungsmittel zwischen Deck- und Objektglas gebracht, und zwar in folgender Weise: auf das Objektglas trägt man das Klärungsmittel auf, darauf kommt das Präparat und darauf wiederum das Klärungsmittel. In diesem Zustand wird das Präparat einer mikroskopischen Untersuchung mit Immersionssystem unterworfen.

Die Menge der in der untersuchten Probe vorhandenen Bakterien wird in üblicher Weise bestimmt, indem an verschiedenen Stellen des Präparates (mit Okularnetz) auf bestimmten Flächen die Bakterien aufgezählt werden und auf Grund der erhaltenen Resultate die Anzahl der Bakterien auf der gesamten Fläche des Ultrafilters und zugleich auch im ganzen Flüssigkeitsvolumen berechnet wird.

Verschiedene Anwendungsmöglichkeiten der Membranfilter.

Die oben beschriebene Methode kann außer zur Bestimmung der Mikroorganismen im Wasser mit gutem Erfolg auch zu einer ganzen Reihe anderer Untersuchungen verwendet werden. Wir haben unser Ultrafilter auch zur zahlenmäßigen Aufnahme der Mikroorganismen in Böden und Meeresgründen angewandt. Wir haben zu diesem Zweck eine Aufschwemmung hergestellt (1 g je 500 ccm Wasser); nach Absetzen der groben Teilchen (Absatzzeit 2—3 Sek.) entnahm man aus der abgestandenen Lösung mit einer Pipette 3—4 ccm, die durch den Ultrafilter filtriert wurden. Im weiteren wurde das Präparat wie beschrieben hergestellt. Das Filtrieren verlief schnell und das erhaltene Präparat war ausgezeichnet differenziert.

Selbstverständlich bleiben die der direkten Bakterienzählmethode üblichen Nachteile auch hier in Kraft (Unmöglichkeit der Abtrennung der lebendigen und toten Bakterien, Unmöglichkeit der Zählung der sich nicht färbenden Sporen u. dgl.). Doch fällt hierbei die ganze Ausführung des Ausstrichs aus, und damit wird auch die mit dieser Operation verbundene Ungenauigkeit umgangen.

Außer der quantitativen Aufnahme der Mikroorganismen kann die Methode der Ultrafiltration auch bei qualitativen Untersuchungen angewandt werden, z. B. zur Aufdeckung schwach vertretener Mikroorganismengruppen. Es kann wohl möglich sein, daß in den Gewässern der Ozeane, Meere, Flüsse u. a. mit relativ lichter Bakterienbevölkerung Prozesse und Prozeßerreger vorhanden sind, die uns nur darum unbekannt bleiben, weil zu ihrem Nachweis Versuche mit relativ großen Wassermengen angestellt werden müßten. Durch Ultrafiltration kann man die Organismen, welche diese Prozesse hervorrufen, anreichern und sie mitsamt dem Filter in elektive Nährböden bringen.

Sehr vorteilhaft ist die Anwendung der Ultrafiltration zur Bestimmung des Coli-Titers, wie sie von Barsow vorgeschlagen worden ist. Er filtriert das Wasser durch unseren Ultrafilter (je nach dem Grad der Ver-

unreinigung nimmt er dazu entweder eine sehr große Menge Wasser = bis zu 500 ccm, oder aber verdünnt es sogar) und bringt danach den Filter mit den sich darauf befindenden Bakterien in eine Petri-Schale mit der Endo-Nährlösung. Die Nährlösung sättigt den Filter und nach Verlauf von 24 Std. erscheinen an seiner fast farblosen Oberfläche die infolge ihrer Färbung scharf hervortretenden Coli-Bakterienkolonien. Auf diese Weise gelingt es, selbst unbedeutende Verunreinigungen des Wassers durch Bac. coli festzustellen.

Bei der Herstellung der Kinofilme werden verschiedene Plastifikatoren angewandt werden, speziell Kampfer, deren Gegenwart für die Bakterien ungünstig sein kann. Doch haben unsere Prüfungen der aus Kinofilmen hergestellten Membranen gezeigt, daß sie keine bakteriziden Eigenschaften besitzen; in Gegenwart einer Nährlösung entwickeln sich auf ihr die Bakterien üppig und liefern ein gutes Wachstum. In dieser Hinsicht haben wir folgende Bakterienarten untersucht:

Bac. megatherium	Bact. Kiliensis	Micrococcus agilis
Bac. mesentericus fuscus	Bac. nitrovorum	Bact. violaceum
Bact. denitrificans	Urobacillus Pasteurian.	Bact. tumefaciens
Bact. pyocyaneus	Sarcina flava	Azotobacter chrooc.
Bac. fluoresc. liq.	Bact. centropunctatum	Bact. prodigiosum

Alle diese Bakterien zeigten nach dem Filtrieren durch ein Ultrafilter ein ausgezeichnetes Wachstum auf der Oberfläche der Membran, die auf Agar-Agar als Nährmilieu aufgelegt wurde; Azotobakter entwickelte sich vortrefflich auf einer Membran, die auf ein Gel mit Winogradskys Nährlösung gebracht wurde. Die gleichzeitige Untersuchung der Filtrate auf ihre Sterilität hat bewiesen, daß die Filtrate aller Kulturen steril waren, d. h. daß alle Bakterien durch die Membran zurückgehalten worden sind.

K. K. Barsow hat Versuche angestellt zwecks Bestimmung der Menge der Bakterien im Wasser des Flusses Moskau, wobei er parallele Versuchsreihen, nach folgenden 2 Methoden, ausführte: der üblichen Methode — Beimpfen eines Agar-Agar- oder Gelatine-Nährbodens mit einer bestimmten Menge Wasser —, und der Methode des Filtrierens desselben Volums Wasser durch ein Ultrafilter mit nachfolgendem Aufbringen der Membran auf die Oberfläche ebensolchen Nährsubstrates in Petri-Schalen. Die Menge der Kolonien, die auf den Membranfiltern gewachsen waren, war sogar etwas größer als die unmittelbar auf den Petri-Schalen. Gleiche Resultate erhielt auch A. Egger in mehr als 100 Versuchen mit Wasser der Wasserleitung in Odessa. Auch diese Versuche bestätigen die Unschädlichkeit der Membran-Ultrafilter aus Kinofilmen für die Entwicklung der Bakterien.

Bei unseren Arbeiten kochen wir zwecks größerer Sicherheit die Ultrafilter, die wir zur Aufzucht der Bakterien anwenden, gewöhnlich 2—3 mal in Wasser.

Die Ultrafiltration kann auch bei Arbeiten mit Bakteriophagen, „filtrierbaren Gonidien" u. dgl. Anwendung finden. Das vorgeschlagene Filter hält die Sterilisierung gut aus, ohne seine Eigenschaften zu ändern. Bei der Sterilisierung im Autoklaven oder im Kochschen Apparat muß das Ultrafilter in einen Kolben mit Wasser gebracht werden. Hierdurch wird gleichzeitig sowohl eine Sterilisierung des Filters als auch seine vollkommene Befeuchtung erzielt.

Will man unsere Ultrafilter zu chemischen Untersuchungen gebrauchen, so muß man berücksichtigen, daß sie vor Beginn der Arbeit erst tüchtig gewässert werden müssen, da das Ultrafilter gewisse Mengen organischer Stoffe und Nitrate abgibt[1] [2]).

Zusammenfassung.

Es wird ein Verfahren zur Herstellung von Ultrafiltern beschrieben und deren Brauchbarkeit für bakteriologische Zwecke experimentell nachgewiesen.

Literatur.

Cholodny, N., Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 77. 1929. — Gurfein, L., Archiv biolog. Nauk. Bd. 30. V—VI. 1930. — Kusnetzow und Karsinkin, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 83. 1931. — Bechhold, Ztschr. f. physikal. Chemie. Bd. 60. 1907. — Zsigmondy und Bachmann, Ztschr. f. anorgan. u. allgem. Chemie. Bd. 103. 1918. — Rasumow, A., „Microbiologia". V. I. 1932 usw. S. 2. — Dianowa und Woroschilowa, Microbiologia. V. I. 1932 S. 3. — Zsigmondy, Kolloidchemie. 5. Aufl. 1925. I. Teil. — Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse. 1931. 1. Bd. — Aschoshov, Ig., Journ. of Bacter. V. 25. 1933. — Barsow, K., Microbiologia. Bd. 1. 1932. S. 4. — Egger, A. (Niederschrift noch nicht veröffentlicht).

Nachdruck verboten.

The Production of Fat by Penicillium javanicum van Beijma.

[234th Contribution from the Color and Farm Waste Division, Bureau of Chemistry and Soils, U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C.]

By **Lewis B. Lockwood**[3]), **George E. Ward, O. E. May, H. T. Herrick, and Hugh T. O'Neill**[4]).

With 1 figure in the text.

In the course of a survey of the fermentation products of glucose and xylose by the Aspergillae, the dried mycelia of about 120 cultures were extracted with ethyl ether. Several of the fungi extracted gave yields of crude fat of from 15 to 30 per cent of the dry weights of the mycelia. Penicillium javanicum van Beijma was chosen for further study because it produced the heaviest mats which contained a substantial fraction of fat.

This study was undertaken to determine the influence of various nutrients, physical factors, and certain ions upon the metabolism of the organism. Throughout the work, the growth of P. javanicum was measured by the weight of the mycelium, the sugar consumption, the quantities

[1]) Aus unveröffentlichten Arbeiten von Skopintzew, B.

[2]) Herrn Prof. W. S. Butkewitsch möchten wir unseren innigsten Dank aussprechen für seine liebenswürdige Aufmerksamkeit und die wertvollen Ratschläge, mit denen er uns während unserer Arbeit unterstützt hat.

[3]) From a dissertation submitted to the Faculty of the Graduate School of Arts and Sciences of the Catholic University of America in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy.

[4]) Instructor in Biology, Catholic University of America, Washington, D. C.

of acid produced and the percentage of the dried mycelium soluble in petroleum ether. Data were obtained on the effect of variations of concentrations and sources of carbon and nitrogen, the $MgSO_4$ and KH_2PO_4 contents of the culture media, of the ratios of surface area to volume, the hydrogen ion concentration of the media, and the air pressure.

The acid produced by P. javanicum from glucose or xylose is citric acid, as determined by precipitation with ammoniacal calcium chloride, or Denigés' reagent.

The fat extracted from the organism solidifies at 6 to 7° C., melts at 15° C. Specific gravity (25°/25°) is 0.9145, refractive index (25°) 1.4680, acid value 10.4 to 10.7, saponification value 191—192, iodine value 84, Reichert-Meißl value 0.3, acetyl value 10.7, mean molecular weight of the saturated fatty acids 272. 30.8 per cent of saturated acids, 60.8 per cent of unsaturated acids, and 2.0 per cent of unsaponifiable material are present in the fat. The fatty acids are oleic, stearic, palmitic, linoleic, and tetracosanic acids.

The factors which influence the production of fat by fungi have received little attention. Bokorny (6) studied the yeast fats, and Nadson and Konokotina (13) investigated the fat of Endomyces vernalis. The fats of the tubercle bacillus have been studied by Anderson (1) and co-workers, and Frouin (10). Terroine and Bonnet (23) studied the energy relations of the production of fat from sugar by Aspergillus niger, and Terroine (24) and co-workers have studied the chemistry of the metabolism of mold fats. Rockwell and O'Flaherty (22) surveyed the genera Aspergillus, Mucor and Penicillium for fat production as part of their work on the analysis of mycelia, and reported low fat contents. Porges (20) reported a slightly greater yield of fat from cultures of Aspergillus niger grown in the presence of 20 mg. per liter of $ZnSO_4$ than from his controls. Barber (2) analyzed the fat of a green Penicillium. He obtained yields of approximately 14 per cent by growing his organism on a 5 per cent sucrose solution for 3 months. When grown on xylose and arabinose, the organism produced fat similar in composition to that produced from sucrose (3). Browne (7) found 27.5 per cent of the mycelium of Citromyces sp. to be a fat which resembled butter-fat in its physical and chemical properties. Pearson and Raper (14) found 2.4 per cent of fat in the moist mycelium of Aspergillus niger and 5 per cent of fat in that of Rhizopus nigricans. They found that the degree of unsaturation of the fatty acids elaborated by molds grown at low temperature was greater than of those grown at higher temperatures. Pontillon (16) has presented a review of the literature of the fats of fungi by botanical groups. He studied the effect of the mineral and organic nutrition of Sterigmatocystis nigra (Aspergillus niger) on the quality and quantity of the fat produced (15, 17, 18, 19)[1]).

Penicillium javanicum was described by van Beijma (4) in 1929. The culture was obtained from a culture of Citromyces

[1]) Since the preparation of this manuscript, complete analysis of the fat of P. javanicum has been published by Ward and Jamieson. (Cf. Ward, George E., and George S. Jamison, The Chemical Composition of the Fat Produced by Penicillium javanicum van Beijma. Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. 56. 1934. p. 973—975.)

luteus from tea roots, at Buitenzorg, Java. This culture was sent to Dr. Charles Thom, Division of Soil Microbiology, Bureau of Chemistry and Soils, United States Department of Agriculture, from whom it was received as No. 5117. This culture was distributed too late to be included by Dr. Thom (25) in his monograph, The Penicillia, but according to him it belongs in the Monoverticillata-Stricta group. Dodge (9) separated P. javanicum from P. brefeldianum Dodge on the basis of cultural characteristics, color of perithecia, and a slight difference in the averages of ascospore sizes. Blochwitz (5) considered P. javanicum to be a mutant of Citromyces luteus[1]).

Penicillium javanicum van Beijma.

Colonies on cornmeal agar colorless mycelium sparse, covered with brownish yellow perithecia after three days. Conidia very sparse. On wort agar, mycelium abundant, at first white, later mouse gray. Perithecia and conidia sparse.

Mycelium septate, hyaline, 2—5 μ in diameter.

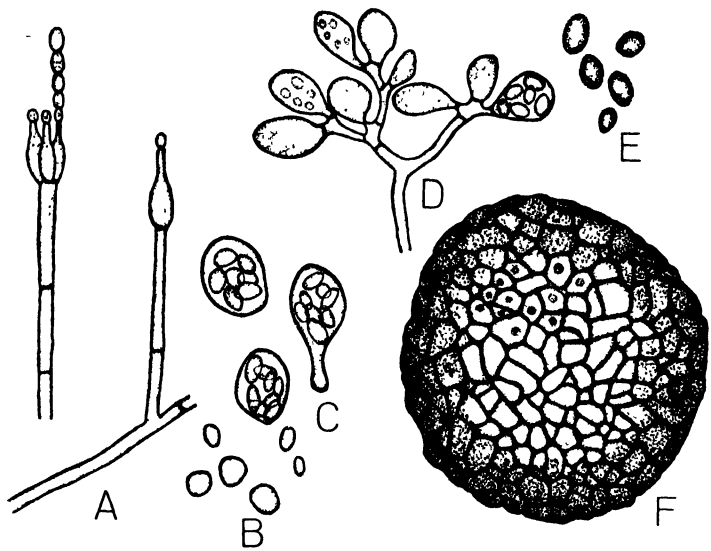


Fig. 1. Penicillium javanicum, A. penicilli × 1800, B. conidia × 1800, C. asci × 1800, D. asci × 1800, E. ascospores × 1800, F. perithecium × 400.

Conidiophores 10—250 μ, usually consisting of a single verticil of 3—5 sterigmata, occasionally with a side branch, or only a single sterigma. Sterigmata linear, tapering evenly to long acuminate points, 2.3—3.5 × 7—12 μ (Fig. 1 A).

Conidia smooth, hyaline, or straw color in mass, subspherical to elliptical, 1.5—2 × 2—4 μ (Fig. 1 B).

Perithecia spherical or nearly so, whitish to brownish straw color, 100—200 μ in diameter (Fig. 1 F).

[1]) Since the preparation of this manuscript, this organism has been renamed Carpenteles javanicum (van Beijma), C. L. Shear, in accordance with the morphology of its perfect stage. (Cf. Shear, C. L., Penicillium glaucum of Brefeld [Carpenteles of Langeron] refound. Mycologia. Vol. 26. 1934. p. 104—107.)

Asci subspherical, oval, or occasionally flask-shaped, 7—12 × 10 μ; 4—8, usually 6— 8 spores (Fig. 1 C—D).

Ascospores elliptical to spherical, minutely echinulate, hyaline, without furrow or frills, 2.4 —4 × 2.5— 4 μ (Fig. 1 E).

Materials and Methods.

Cultures of P. javanicum were grown for storage on a medium of 1.5 per cent of agar made with the broth of 60 grams of corn meal per liter. A special medium developed for the production of enough conidia for the inoculation of the experimental flasks contained 4 mg. H_3PO_4, 40 mg. $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$, 8 mg. KCl, and 225 g. of glucose per liter. When this medium is inoculated from the cornmeal agar storage tubes, the organism produces conidia abundantly, and few perithecia. Inoculations were made from this medium directly to the experimental flasks, thus allowing only one generation on the liquid sporulation medium. This procedure must be adhered to rigidly because the organism is rather variable. Although the flasks within a series are similar, the variation from series to series may be considerable.

For experimental purposes, 200 cc. Pyrex Erlenmeyer flasks, each containing 75 cc. of culture solution, were used in triplicate, unless otherwise stated. The standard culture solution contained $MgSO_4$, supplied as 0.25 g. of $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$, 0.3 g. KH_2PO_4, 2.25 g. of NH_4NO_3, and 200 g. of glucose per liter. The nutrient salts employed were C. P. quality, and a commercial grade of glucose monohyrdate containing approximately 91.5 per cent of pure glucose, 8 per cent of H_2O and 0.4 per cent of dextrin and other nonreducing carbohydrates was used as a carbon source in most of the culture solutions. This gave the culture solutions a pH of from 4. to 5. Glucose was supplied in such quantity that the glucose present, as measured by copper reduction methods, was 20 per cent of the solution.

Chemically pure anhydrous glucose was employed in those experiments in which various salts were added to the culture solution to ascertain the effect of the ions on the metabolism of the organism. As it was thought desirable to obtain some information concerning the nature of the inorganic constituents of these sugars, 520 g. of commercial glucose was ashed slowly in small successive portions in a platinum vessel, and the residue brought to constant weight by continued heating at a temperature of 700—800° C. in a muffle furnace. From this sample 0.035 g. of material was obtained, which is equivalent to 0.0068 per cent ash. A 520 g. sample of the C. P. glucose treated in a similar manner yielded 0.0096 g. of residue, equivalent to 0.0018 per cent ash. Both these ash samples were submitted to Dr. E. H. Melvin, Bureau of Chemistry and Soils, for spectrographic analysis. Lines of the following metals were found definitely to be present in the spectrographs of both materials: Lithium, sodium, strontium, calcium, rubidium, potassium, manganese, aluminium, iron, rhodium, nickel, silver, copper, magnesium, tin, boron, and silicon. No qualitative differences in the spectra of the two samples were observed. Iron was apparently the out predominant element in both ash samples. Lithium, strontium, calcium, rubidium, potassium, silver, and magnesium were present in both samples in approximately the same concentrations, while sodium, iron, rhodium, nickel, copper, tin, boron, and silicon were present in lower concentrations

in the ash of the C. P. glucose. On the other hand, the ash of the C. P. glucose contained considerably more aluminium.

Culture solutions were sterilized by heating to 120° C. for 15 minutes, under pressure of 2 atmospheres. All culture solutions were made with distilled water condensed in block tin. Unless otherwise indicated, all cultures were maintained at 30° C. for 12 days.

Cultures were harvested by heating to boiling, filtering through cheesecloth and then washing the mats by boiling with 75 cc. of distilled water. The mats were dried for 24 hours in an oven at 95° C., and the filtrates were reserved for titration with N/10 alkali and for the determination of reducing sugars by the Shaffer-Hartmann method. Original sugars were determined by the Shaffer-Hartmann method, or by measurement of the index of refraction of the solution with an Abbé refractometer.

Samples of from 0.5 to 5.0 g. of mycelium which had been ground in a mortar and dried in an oven et 100° C. for 4 hours were extracted for 24 hours in Soxhlet extractors with redistilled petroleum ether (B. P. 35—80° C.). Filter cups containing extracted samples were dried in an oven at 100° C. under reduced pressure for 5 hours, then removed to a sulfuric acid desiccator and weighed at the end of 20 minutes. The filter cups are very hygroscopic, so this procedure was adhered to rigidly. After being used, filter cups were cleaned with an air blast.

The Relation of Age of Cultures to Yields.

In order to determine the best age for harvesting the cultures, a series of cultures which contained 25 per cent of glucose, 2.25 g. of NH_4NO_3, 0.25 g of $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$, and 0.3 g. of KH_2PO_4 per liter was harvested at intervals of 4 days for 36 days, then at 8-day intervals to 60 days. In view of the data presented in Table 1, it was decided to harvest cultures at the age of 12 days. This age comes in the middle of the period of most rapid growth, so that the effect of any inhibiting or stimulating factors would be most evident at this time. From these data it will be seen that the weight of the

Table 1. The Effect of Age of Culture Upon Yields.

75 cc. of 25 per cent glucose nutrient solution (18.75 g of glucose per flask). Temperature, 30° C.

Age Days	Mat Weight Grams	Fat Per cent	Culture Acid Equivalent cc. N/10 Acid	Glucose Consumed Grams
4	0.405	21.3	14	1.9
8	1.584	24.3	47	6.7
12	2.396	22.1	123	10.0
16	2.660	28.1	174	12.6
20	3.001	32.7	220	14.5
24	3.271	29.5	188	14.7
28	2.823	32.6	166	14.0
32	3.212	32.1	129	15.3
36	3.465	25.5	100	15.3
44	3.645	28.3	133	15.3
52	3.870	27.5	123	16.0
60	3.977	27.3	131	16.5

mycelium increases rapidly during the first 12 days, then slowly throughout the next 48 days. The fat content of the mycelium is relatively great throughout the entire culture period, gradually increasing to the 20th day, and gradually descreasing after the 28th day. There is a rapid initial rise in titratable acidity of the culture medium to the 20th day, followed by a gradual decline to the end of the experiment. At about the 30th day, a secondary mat formed above the original one is evident, and by the end of the 60 days, this secondary mat forms the major part of the culture.

Nutritional Relations of Glucose and Essential Salts.

The elements commonly considered essential in large quantities for the growth of fungi include, besides carbon, hydrogen, and oxygen, nitrogen, magnesium, sulfur, potassium, and phosphorus. Nitrogen was supplied as NH_4NO_3, magnesium and sulfur as $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$, and potassium and phosphorus as KH_2PO_4. Glucose was used as the carbon source.

Glucose Concentrations.

The effect of varying glucose concentrations on the metabolism of P. javanicum is shown in Table 2. From these data it is evident that the greater concentrations of glucose inhibit growth, as measured by mat weights. The greatest titratable acidity of the culture medium occurs at 30 per cent glucose concentration, and the greatest percentage of fat in the mycelium occurs at 40 per cent glucose concentration.

Table 2. Effect of Varying the Sugar Concentration on the Metabolism of P. javanicum (75 cc. glucose nutrient solution per flask. Duration of culture 12 days. Temp. 30° C.)

Glucose	Mat Weight	Fat	Culture Acid Equivalent	Glucose Consumed
Per Cent	Grams	Per Cent	cc. N/10 Acid	Grams
20	2.522	29.0	149	10.3
30	2.400	34.6	209	11.3
40	1.964	41.5	148	9.9
50	1.021	35.2	20	5.2

Ammonium Nitrate Concentrations.

Cultures were made in which were used varying quantities of ammonium nitrate as the sole source of nitrogen, and 0.25 g. of $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ and 0.3 g of KH_2PO_4 per liter. As a result of this experiment, a concentra-

Table 3. The Effect of Varying the NH_4NO_3 Concentration on the Metabolism of P. javanicum.

75 cc. 20.5 per cent glucose nutrient solution. Duration, 12 days. Temperature, 30° C.)

NH_4NO_3/L	Mat Weight	Fat	Culture Acid Equivalent	Glucose Consumed
Grams	Grams	Per Cent	cc. N/10 Acid	Grams
1.125	1.261	16.4	13	4.8
2.25	2.441	19.2	61	10.8
3.375	2.937	15.1	77	11.3
4.5	1.263	3.6	34	11.1

tion of 2.25 g. of NH_4NO_3 per liter was adopted as the standard quantity for investigation of other factors. Either 2.25 or 3.375 g. of NH_4NO_3 per liter would be satisfactory, since these concentrations provided the heaviest mats with good fat concentrations. Data are presented in Table 3.

Magnesium Sulfate Concentrations.

Cultures were made in which varying quantities of $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$, 2.25 g. of NH_4NO_3 and 0.3 g. of KH_2PO_4 per liter were used. As a result of this experiment a concentration of 0.25 g. of $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ per liter was adopted as the standard quantity for investigation of other factors. Concentrations above 0.5 g. per liter gave progressively decreasing values for glucose consumption and mat weights, and concentrations of greater than 4 g. per liter resulted in a very marked decline in the fat content of the mats. Data are presented in Table 4.

Table 4. Effect of Varying the $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ Concentration on the Metabolism of P. javanicum.

(75 cc. of 18.9 per cent glucose nutrient solution. Duration, 12 days. Temp., 30° C.)

$MgSO_4.7\,H_2O$/L Grams	Mat Weight Grams	Fat Per Cent	Culture Acid Equivalent cc. N/10 Acid	Glucose Consumed Grams
0.125	1.880	13.0	129	7.5
0.25	2.015	11.7	110	7.1
0.5	1.995	13.2	102	7.3
1.0	1.904	13.2	73	6.6
2.0	1.814	9.0	93	6.7
4.0	1.743	14.0	88	6.7
8.0	1.626	2.1	82	5.9
12.0	1.518	3.4	78	6.1
16.0	1.446	3.4	72	5.1

Table 5. Effect of Varying the KH_2PO_4 Concentration on the Metabolism of P. javanicum.

(75 cc. of 19.6 per cent glucose nutrient solution. Duration, 12 days. Temp., 30° C.)

KH_2PO_4/L Grams	Mat Weight Grams	Fat Per Cent	Culture Acid Equivalent cc. N/10 Acid	Glucose Consumed Grams
0.0375	0.380	4.4	16	0.8
0.075	0.622	2.8	18	1.6
0.15	1.362	12.1	72	5.2
0.3	2.008	9.3	152	8.9
0.6	2.296	6.4	154	8.6
1.2	2.013	7.1	79	7.5
2.4	1.895	3.8	85	7.2
4.8	1.537	2.8	57	5.6
9.6	1.907	2.7	87	6.3
19.2	1.505	4.2	135	6.3
38.4	1.534	7.2	248	7.1

Potassium Dihydrogen Phosphate Concentrations.

Cultures were made in which varying quantities of KH_2PO_4, 2.25 g. of NH_4NO_3, and 0.25 g. of $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ per liter were used. As a result

of this experiment a concentration of 0.3 g. of KH_2PO_4 per liter was adopted as the standard quantity of KH_2PO_4 for investigation of other factors. The range of 0.3 to 1.2 g. per liter gives the heaviest mats, and the concentrations of 0.15 and 0.3 g. per liter give the greatest fat yields. The titration values of the cultures containing 9.6 or more grams can be accounted for, at least partly, by the buffering effect of the KH_2PO_4. Data are presented in Table 5.

Air Pressure.

Cultures were grown for 8 days under 2, 3, 4, 5 and 6 atmospheres pressure. Control flasks were grown at 1 atmosphere pressure. It will be seen from the data presented in Table 6 that while the control flasks vary somewhat, there is an evident trend of inhibition of the metabolism of P. javanicum by the increasing pressure, that the mycelial weights, titratable acidity, fat, and sugar consumption decrease as the pressure increases.

Table 6. Effect of Pressure on the Metabolism of P. javanicum.
(75 cc. of 20 per cent glucose nutrient solution. Duration, 8 days. Temp., 30° C.)

Pressure Atmospheres	Mat Weight Grams	Fat Per Cent	Culture Acid Equivalent cc. N/10 Acid	Glucose Consumed Grams
2	1.659	22.8	59	7.1
Control	1.866	28.4	115	8.4
3	1.623	7.8	70	—
Control	1.751	12.6	60	—
4	1.295	13.0	59	—
Control	1.771	18.7	98	—
5	1.063	16.4	21	3.9
Control	1.660	26.0	67	5.8
6	0.662	6.0	12	2.6
Control	1.510	15.2	31	4.9

Table 7. The Effect of Varying the Initial Hydrogen Ion Concentration on the Metabolism of P. javanicum.
(75 cc. of 20 per cent glucose nutrient solution. Duration, 12 days. Tempertaure, 30° C.)

Initial pH	Final pH	Mat Weight Grams	Fat Per Cent	Culture Acid Equivalent cc. N/10 Acid	Glucose Consumed Grams
2.1	2.4	1.640	4.7	20	7.2
3.1	2.5	2.096	17.5	132	9.8
3.9	2.5	2.075	22.6	107	9.8
5.0	2.4	2.303	20.0	143	10.3
6.2	2.6	2.290	23.9	92	9.8
6.8	2.5	2.100	23.4	118	10.3
7.9	3.7	1.093	19.3	16	4.3

Hydrogen Ion Concentration.

Cultures were made having initial pH values (after sterilization) adjusted to pH 1.1, 2.1, 3.1, 3.9, 5.0, 6.2, 6.8, and 7.9 with sulfuric acid and potassium hydroxide. Measurements were made with a quinhydrone electrode. At pH 1.1, no growth occurred. Data covering the remainder of the

series are given in Table 7. It will be noted that in all cultures in which a heavy development of the mycelium occurred, the final value of the pH was approximately 2.5. The range of tolerance is so great that it was not considered necessary to regulate the pH of the culture media for ordinary purposes.

Surface Area-Volume Ratios.

In the 200 cc. Erlenmeyer flasks used for most of the experiments, the ratio of surface area to volume of the solution is 31 sq. cm. to 75 cc. In the experiments recorded here reagent bottles were substituted for the Erlenmeyer flacks. In the bottles 111 cc. of culture solution gave the same surface area-volume ratio as that obtained in the Erlenmeyer flasks. Using this as a base, a series of cultures were made in which the volumes were doubled, tripled, and quadrupled, the surface area remaining constant. Data presented in Table 8 indicate that while the ether-soluble fraction of the mycelium decreases as the volume of the solution increases, the absolute quantity of fat remains relatively constant. However, the efficiency of the conversion of glucose in to fat and citric acid by the organism is greatly impaired. Thus, at the surface area-volume ratio of 0.413, 19.3 grams of glucose are required to produce one gram of fat, while at surface area-volume ratio 0.103, 31.1 grams of glucose are required.

Table 8. The Effect of Varying the Surface Area-Volume Ratios on the Metabolism of P. javanicum.

(20.2 per cent glucose nutrient solution. Duration, 12 days. Temperature, 30° C.)

Surface-Volume Ratio	Volume cc.	Mat Weight Grams	Culture Acid Equivalent cc. N/10 Acid	Glucose Consumed Grams	Total Fat Grams	Fat Per Cent
0.413	111	3.418	243	14.0	0.724	21.2
0.207	222	4.103	164	15.8	0.697	17.0
0.133	333	4.263	169	18.6	0.733	17.2
0.103	444	4.276	148	21.0	0.675	15.8

Nitrogen Sources.

Several inorganic sources of nitrogen were supplied to determine their relative value in the metabolism of the mold. These were 2.25 grams of NH_4NO_3, 4.8 g. of $NaNO_3$, 3.9 g. of $NaNO_2$, 6.66 g. of $Ca(NO_3)_2 \cdot 4\ H_2O$, 7.21 g. of $Mg(NO_3)_2 \cdot 6\ H_2O$, 5.7 g. of KNO_3, 3.75 g. of $(NH_4)_2SO_4$, 6.44 g. of $(NH_4)_2S_2O_8$, or 3.02 g. of NH_4Cl per liter. These quantities are approximately equivalent in nitrogen content. When ammonium persulfate was offered, the fungus did not grow, but this may have been the result of the high acidity of the solution, since a pH of less than 2.0 was found when the solution was tested with thymol blue. From the data presented in Table 9, it appears that the mold can utilize ammonium, nitrite, and nitrate nitrogen about equally well, but that the differential absorption of the ammonium ion in he cases of the NH_4Cl and $(NH_4)_2SO_4$ brings the pH too low for good growth nd fat formation.

a

Table 9. The Metabolism of P. javanicum on Various Nitrogen Sources. (75 cc. of 20.7 per cent glucose. Duration, 12 days. Temperature, 30° C.)

Nitrogen Source	Mat Weight Grams	Fat Per Cent	Culture Acid Equivalent cc. N/10 Acid	Glucose Consumed Grams
NH_4NO_3	2.761	28.8	208	10.8
$NaNO_3$	2.090	26.4	154	9.6
$NaNO_2$	1.438	25.5	136	7.7
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4\,H_2O$	2.003	22.4	199	8.5
$Mg(NO_3)_2 \cdot 6\,H_2O$	2.117	30.0	205	7.1
KNO_3	2.133	28.2	172	8.7
NH_4Cl	1.764	7.1	44	6.7
$(NH_4)_2SO_4$	0.821	2.4	82	5.8

Carbon Sources.

Carbohydrates (10 per cent solutions), alcohols (2 per cent solutions), and sodium salts of organic acids (5 per cent solutions) were supplied as carbon sources with the standard nutrient solution. Results are presented in Table 10. Xylose is utilized by P. javanicum for growth and fat production as readily as is glucose. Barber (4) has reported that the fatty acids produced by a green Penicillium when pentoses were supplied as the sole carbon source were the same as those produced when only hexoses were supplied.

Table 10. The Metabolism of P. javanicum on Various Carbon Sources[1]). (50 cc. of nutrient solution. Duration, 12 days. Temperature, 30° C.)

Carbon Source	Mat Weight Grams	Culture Acid Equivalent cc. N/10 Acid	Acid Produced	Fat Per Cent
Xylose	1.35	44	Citric	20.8
Glucose	1.39	80	Citric	17.0
Galactose	0.56	21	—	3.5
Maltose	0.73	—	—	9.8
Sucrose	0.17	12	Citric	9.5
Dextrin	0.23	—	—	4.7
Starch	0.38	16	—	3.5
Methanol	0.014	7	—	—
Ethanol	0.043	15	—	—
n-Propanol	0.010	55	—	—
iso-Propanol	0.012	7	—	—
Secondary butanol	0.011	6	—	—
Tertiary pentanol	0.010	4	—	—
Glycerol	0.300	23	—	5.0
Mannitol	0.401	28	—	5.6
Sodium gluconate	0.422	—	Oxalic	—
Sodium citrate	0.023	—	Oxalic	—
Sodium acetate	0.027	—	Oxalic	—
Sodium malate	0.039	—	Oxalic	—
Sodium tartrate	0.016	—	Oxalic	—
Sodium fumarate	0.037	—	Oxalic	—
Sodium succinate	0.048	—	Oxalic and Citric	—

[1]) Carbohydrates 10%, alcohols 2%, sodium salts of organic acids 5%.

Of the alcohols, only glycerol and mannitol were utilized to any extent. While no germination of spores occurs on n-butyl, n-amyl, active amyl, or benzyl alcohol, slight growth occurs on methyl, ethyl, propyl, iso-propyl, secondary butyl, and tertiary amyl alcohols. Of the monohydric aliphatic alcohols supplied, growth occurred on only those alcohols in which the hydroxyl group is included in a straight chain of 3 or fewer carbon atoms.

Of the organic acids supplied, only gluconic acid proved satisfactory as a carbon source. Oxalic acid was produced from all the sodium salts of the organic acids, and succinic acid gave in addition citric acid.

The Effect of Ions.

To determine the effect of ions upon the production of fat by P. javanicum, triplicate cultures were grown in specially cleaned Pyrex Erlenmeyer flasks, each of which contained 50 cc. of the standard culture medium made with C. P. glucose. The flasks were cleaned by washing with strong soap, boiling with a sulfuric acid-potassium dichromate cleaning solution, and then boiling with 3 successive portions of distilled water. Data presented in Table 11 are averages of 3 flasks. Throughout the work, the triplicate flasks in a given series checked each other well, but experiments conducted subsequently did not agree closely with previous series, although they showed the same trend. Consequently it is impossible to draw conclusions or parallels from 2 different series of cultures, although the conclusions and comparisons made regarding the tendencies of a single series of ions or a single series of cultures will be valid.

Table 11. The Effect of the Addition of Ions on the Metabolism of P. javanicum. (50 cc. of 20 per cent C. P. glucose. Duration, 12 days. Temperature, 30° C.)

Salt	Concentration Mg/L	Mat Weight Grams	Fat Per Cent	Culture Acid Equivalent cc. N/10 Acid	Glucose Consumed Grams
Ca-gluconate	1	0.696	4.4	11	3.1
Ca-gluconate	20	0.850	4.2	24	3.9
Ca-gluconate	100	1.106	8.9	90	5.2
C. P. glucose	—	0.503	3.8	9	2.8
Commercial glucose	—	1.776	26.0	176	7.6
$CbCl_5$	Sat.	1.399	18.0	124	6.6
$MoCl_4$	Sat.	1.683	26.6	139	6.0
WCl_4	Sat.	1.524	20.2	106	5.6
$FeCl_3$	1	1.462	13.4	78	5.3
$FeCl_3$	20	1.345	20.2	98	4.9
$FeCl_3$	100	1.546	23.6	150	5.8
C. P. glucose	—	1.069	3.7	41	4.0
Commercial glucose	—	1.517	17.6	141	5.4
Na_3AsO_4	1	0.850	7.2	22	3.0
Na_3AsO_4	20	0.139	6.4	13	0.6
Na_3AsO_4	100	0.000	—	00	0.0
$Cr(NO_3)_3$	1	0.488	6.6	17	2.3
$Cr(NO_3)_3$	20	1.181	4.7	54	4.2
$Cr(NO_3)_3$	100	1.579	23.7	153	5.6
C. P. glucose	—	0.492	6.5	11	2.0
Commercial glucose	—	1.717	22.9	39.0	—

For the initial survey, the ions were added to the culture solutions after sterilization, so that the quantities of the elements represented by the ion were 1, 20, and 100 milligrams per liter. In a number of cases, the material precipitated out when added to the glucose solutions, and in other cases, indicated in Table 11 by "Sat.", the solubilities of the salts supplied were such that the formation of solutions of 20 and 100 milligrams per liter did not occur. Several salts decomposed to form insoluble oxides, and some were reduced to the metal and held in colloidal suspensions, such as the purple gold sols obtained when auric chloride is added to glucose solutions.

Chemicals used in this series of experiments were commercial C. P. grade, with the exception of the gluconates, which were all prepared in this Division.

The following salts had no apparent effect on the metabolism of P. javanicum when supplied in the concentrations of 100 milligrams per liter: $NaNO_3$, $RbNO_3$, $CsNO_3$, $AuCl_3$, Ba-gluconate, Sr-gluconate, $Be(NO_3)_2$, $Sc(NO_3)_3$, $Y(NO_3)_3$, $LaCl_3$, $Al_2(SO_4)_3$, $Ga(NO_3)_3$, $InCl_3$, $Zr(NO_3)_4$, $Ce(SO_4)_2$, $SnCl_2$, Pb-gluconate, $Th(NO_3)_4$, Na_2UO_4, $MnCl_2$, Ni-gluconate, $Co(NO_3)_2$, $UO_2(C_2H_3O_2)_2$, $RuCl_3$, $RhCl_3$, $IrCl_4 \cdot 2\,KCl$, NaCl, NaBr, and KI, and H_3BO_3. It was not possible to obtain solutions of the above mentioned salts of Au, Sn, Pb, Ce or Na_2UO_4 in the concentration of 100 milligrams per liter, and saturated solutions were used instead. $LiNO_3$, $CuSO_4$, $AgNO_3$, $CdCl_2$, $HgCl_2$, $Tl(NO_3)_3$, $Na_3VO_4 \cdot 16\,H_2O$, $TaF_5 \cdot 2\,KF$, Na_3BiO_4, Na_3AsO_4 $K_2Cr_2O_7$, $PdCl_2$, $OsCl_4 \cdot 2\,KCl$, Na_2PtCl_6, and NaF were toxic when supplied at 20 milligrams per liter, and $ZnSO_4$, Na_2MoO_4 and Na_2WO_4 were slightly toxic when supplied at 100 milligrams per liter. The group Cd and Hg is more toxic than ions of Be and Zn, which correlates with their relative positions in the second group of the periodic system. (Table 12.)

Table 12. The Effect of the Addition of Ions on the Metabolism of P. javanicum.

(50 cc. of 20 per cent C. P. glucose. Duration, 12 days. Temperature, 30° C.)

Salt	Concentration Mg/L	Mat Weight Grams	Fat %	Culture Acid Equivalent cc. N/10 Acid
$Be(NO_3)_2$	1	0.626	3.7	12
$Be(NO_3)_2$	20	0.494	10.4	13
$Be(NO_3)_2$	100	0.411	3.5	17
$ZnSO_4$	1	0.455	5.5	12
$ZnSO_4$	20	0.409	7.8	15
$ZnSO_4$	100	0.322	3.1	14
$CdCl_2$	1	0.368	4.9	13
$CdCl_2$	20	0.000	—	—
$HgCl_2$	1	0.244	6.2	11
$HgCl_2$	20	0.000	—	—
C. P. glucose	—	0.578	3.0	10
Commercial glucose	—	1.566	32.5	143

Calcium gluconate produced a marked increase in mycelial weights, citric acid production and sugar consumption, when supplied at 100 milligrams per liter, but had no apparent effect upon the production of fat. P.

javanicum gave increased yields of fat, citric acid and mycelium when molybdic, tungstic, columbic, and ferric chlorides or chromic nitrate were supplied at 100 milligrams per liter. Quilico and Dicapua (21), studying the citric fermentation, found that ferric chloride stimulated citric acid production and growth of one strain of Aspergillus niger but not of another strain.

A number of fungi are able to utilize arsenical compounds in their metabolism, and liberate arsenical gas, which may be recognized by its odor. Gosio (11, 12) reported this, and recently Thom and Raper (26) conducted a survey of fungi to determine their ability to metabolize arsenicals. Challenger, Higginbottom, and Ellis (8) found that 4 strains of Penicillium brevicaule produced trimethylarsine and dimethylethylarsine from As_2O_3. P. javanicum produced heavier mats when 1 milligram of Na_3AsO_4 per liter was added to the culture solutions, but 20 milligrams per liter was distinctly inhibitive. No odor of arsenical gas was detected.

From this survey of the effect of ions upon the metabolism of P. javanicum, it is evident that no generalization can be made regarding the physiological effect of ions. In one instance it is possible to correlate the inhibitive effect of the ions with the atomic weights of the elements Be and Zn, Cd and Hg. In the case of chromium, it has been shown that although in the presence of the chromic ion, P. javanicum may give increased yields of fat, citric acid and mycelium, the dichromate ion is distinctly toxic. This series of experiments demonstrates no direct relation between the production of mycelium, consumption of sugar, and production of citric acid, on the one hand, and the production of fat on the other. When calcium gluconate was added to the culture medium, P. javanicum gave increased yields, as measured by the first 3 criteria, but no increased yield when measured by the 4th.

In this series of experiments, all the metals found in the sugar by spectrographic methods were added to the culture solutions in such quantities as to demonstrate their effects. Of these metals, only iron, potassium, and magnesium have roles in the metabolism of the organism. Potassium and magnesium were supplied throughout all the experiments in such quantities as to remove the influence of variation resultant from the addition of these salts as impurities in the sugar. On the assumption that the ash of the glucose is pure Fe_2O_3, no allowance being made for the other 16 elements known to be present in the ash, iron was added as an impurity in the sugar in the quantity of 2.52 milligrams per liter. This quantity of iron may influence the metabolism of the organism, but it was supplied constantly throughout the experiments in which the C. P. grade of glucose was used.

Summary.

Data have been presented to show that although the weights of the mycelium of P. javanicum increased throughout 60 days, the maximum yields of fat and the maximum titratable acidity of the culture solutions occurred at the age of approximately 20 days.

Penicillium javanicum produced the greatest weight of mycelium when the sugar concentration was approximately 20 per cent. The greatest quantity of fat was formed when the sugar concentration was approximately 30 per cent.

The range of 2.25 to 3.375 grams of NH_4NO_3, approximately 0.25 grams of $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ and the range of 0.3 to 1.2 grams of KH_2PO_4 per liter are most favorable for the metabolism of Penicillium javanicum.

Increased air pressure inhibits the growth and metabolism of the fungus.

Growth occurred over the range of initial pH values of 2.1 to 7.9, the final pH values approaching 2.5. The range of pH 3.1 to 6.8 was favo rable for growth and metabolism of the fungus.

The efficiency of the organism in converting glucose to fat and citric acid is impaired by increasing the ratio of volume to surface area.

Ammonium nitrate was the most favorable nitrogen source. The organism grew on sodium nitrate, potassium nitrate, calcium nitrate, magnesium nitrate, sodium nitrite, ammonium chloride, and ammonium sulfate.

P. javanicum produced citric acid from xylose, glucose, and sucrose, and sodium citrate from sodium succinate. It produced sodium oxalate from the sodium salts of gluconic, citric, acetic, malic, fumaric, succinic, and tartaric acids. It grew on galactose, maltose, dextrin, starch, methanol, ethanol, n-propanol, iso-propanol, sec.-butanol, tert.-pentanol, glycerol, and mannitol. It did not grow on n-butanol, n-pentanol, -active pentanol, or benzyl alcohol.

The effect of 52 ions upon the metabolism of P. javanicum has been studied. Lithium, cupric, silver, auric, cadmic, mercuric, thallic, vanadate, bismuthate, arsenate, dichromate, palladic, and fluoride ions, as well as $OsCl_4 \cdot 2\,KCl$ and Na_2PtCl_6, were found to be toxic to P. javanicum in concentrations of 100 milligrams per liter. Columbic, molybdic, tungstic, ferric, and chromic ions were found to increase growth, sugar consumption fat and citric acid production by the fungus. Ca was also found to increase growth, sugar consumption and citric acid production. A series expressing increasing inhibitory effects of the ions of Be, Zn, Cd and Hg was obtained.

Literature.

1. Anderson, R. J., The chemistry of the lipoids of tubercle bacilli. (Physiological Reviews. Vol. 12. 1932. p. 166—189.) — 2. Barber, Harold Hayden, The production of fat by a species of Penicillium grown in sucrose solution. (Journ. Soc. Chem. Ind. Vol. 46. 1927. 200 T.) — 3. Barber, Harold Hayden, Production of fat from carbohydrates and similar media by a species of Penicillium. (Biochem. Journ. Vol. 23. 1929. p. 1158—1164.) — 4. Beijma thoe Kingma, F. H. van, Mykologische Untersuchungen — Penicillium javanicum, nov. spec. (Verhandel. Akad. Wetenschappen Amsterdam, Afd. Natuurk. [Tw. Sect.] Vol. 26 [4]. 1929. p. 16—19.) — 5. Blockwitz, Adalbert, Eine Mutation von Citromyces luteus. (Ann. Myc. Bd. 29. 1931. S. 280—282.) — 6. Bokorny, T., Einige Versuche über das Fett um der Bierhefe. Biochem. Ztschr. Bd. 75. 1916. S. 346.) — 7. Browne, C. A., Jr., The fermentation of sugar-cane products. (Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. 28. 1906. p. 465—469.) — 8. Challenger, Frederick; Higginbottom, Constance, and Ellis, Louis, Formation of organo-metalloidal compounds by microorganisms. I. Trimethylarsine and dimethylethylarsine. (Journ. Chem. Soc. 1933. p. 95—101.) — 9. Dodge, B. O., The perithecium and ascus of Penicillium. (Mycologia. Vol. 25. 1933. p. 90—104.) — 10. Frouin, Albert, Variation de matieres grasses du bacille tuberculeux cultivé sur milieux definis en presence of terres du groupe cerique. (Compt. rend. Paris. T. 170. 1920. p. 1471—1473.) — 11. Gosio, B., Azioni di alcune muffe sui composti fissi d'arsenico. (Rev. d'Igiene San. Pub. T. 3. 1892. p. 201—230.) — 12. Gosio, B., Sur riconoscimento dell' arsenico par mezzo di alcuni muffe. (Rev. d'Igiene San. Pub. T. 3. 1892. p. 261—273.) — 13. Nadson, G., and Konokotina, A., „Fetthefe" Endomyces vernalis Ludmals, Bezugsquelle der Fette für Nahrungs- und technische Zwecke. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 41. 1924. S. 249—251.) — 14. Pearson, Leonore Kletz, and Raper,

Henry Stanley. The influence of temperature on the nature of the fat formed by living organisms. (Biochem. Journ. Vol. 21. 1927. p. 875—879.) — 15. Pontillon, Charles. Variations de acides gras du Sterigmatocystis nigra en fonction de la composition minerále du liquide de culture. (Compt. rend. Paris. T. 191. 1930. p. 1148.) — 16. Pontillon, Charles, Contribution a l'etude physiologique des lipides du Sterigmatocystis nigra. (Rev. gen. bot. T. 44. 1932. p. 417—449.) — 17. Pontillon, Charles, Contribution a l'etude physiologique des lipides du Sterigmatocystis nigra. T. 44. 1932. p. 465—483.) — 18. Pontillon, Charles, Contribution a l'etude physiologique des lipides du Sterigmatocystis nigra. (Rev. gen. bot. T. 44. 1932. p. 526—560.) — 19. Pontillon, Charles, Contribution a l'etude physiologique des lipides du Sterigmatocystis nigra. (Rev. gen. bot. T. 45. 1933. p. 20—52.) — 20. Porges, Nandor, Chemical composition of Aspergillus niger as modified by zinc sulphate. (Bot. Gaz. Vol. 94. 1932. p. 197—205.) — 21. Quilico, Adolfo, e DiCapua, Alberti, Sopra l'influenza del ferro sulla fermentazione citrica dell' Aspergillus niger. (Giorn. chim. ind. appl. T. 14. 1932. p. 229—293.) — 22. Rockwell, G. E., and O'Flaherty, Fred, Studies in the physiology of moulds II. Composition and culture of moulds. (Journ. Amer. Leather Chem. Assoc. Vol. 26. 1931. p. 216.) — 23. Terroine, Emile F., et Bonnet, R., L'energie de croissance X. — Formation des matieres grasses au dépens de glucides chez les microorganisms. (Bull. soc. chim. biol. T. 9. 1927. p. 588—596.) — 24. Terroine, E. F., Bonnet, R., Kopp, G., et Vechot, J., Sur la signification physiologique des liaisons ethyleniques des acides gras. (Bull. soc. chim. biol. T. 9. 1927. p. 604.) — 25. Thom, Charles, The Penicillia. Baltimore 1930. 644 p. — 26. Thom, Charles, and Raper, Kenneth, The arsenic fungi of Gosio. (Science. Vol. 75. Dec. 9., 1932. p. 548—550.)

Nachdruck verboten.

Volutinnachweis in den lebenden Hefezellen durch Neutralrot.

[Mitteilung aus dem Bakteriologischen Institut der Preuß. Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel.]

Von **Ruth Heucke** und **W. Henneberg.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Vitalgefärbte Hefezellen[1]) sind für viele Untersuchungen geeigneter als nach Abtötung gefärbte. Im ersteren Fall bleiben Form und Größe und zunächst auch der Zellinhalt im natürlichen Zustand erhalten. Bei Einwirkung von dünner Methylenblaulösung mit einer Spur Essigsäure gelingt es, den Zellkern[2]) sichtbar zu machen, vorausgesetzt, daß die Hefe einen bestimmten Ernährungszustand (Fett, Eiweiß, Glykogen in geringer Menge) besitzt. Mit sehr dünner Sudanlösung oder besser noch mittels der Naphtholblaureaktion färbt sich das Fett in den lebenden Zellen orangerot bzw. blau. Sehr dünne Jodjodkaliumlösung färbt das Glykogen, ohne daß sogleich die Hefezellen absterben. Nach unseren Feststellungen kann man sehr leicht mit Hilfe von dünner wässeriger Neutralrotlösung auch das Volutin in lebenden Zellen sichtbar machen.

Auf einem mit 0,001—0,005% Neutralrot gefärbten Wasseragar mit einem Butterausstrich zeigten sich rotgefärbte Kolonien von einer an sich

[1]) Henneberg, Handbuch der Gärungsbakteriologie. 2. Aufl. Berlin (Parey) 1926.

[2]) Henneberg, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 44. 1915.

nicht roten Eutorula-Hefeart. Bei der mikroskopischen Untersuchung waren in den ungefärbten Hefezellen rote neben ungefärbten runden Körperchen zu sehen (Abb. 1 u. 2). Nach Zusatz von Sudanlösung färbten sich die bisher ungefärbten orangerot, ein Beweis, daß es sich um Fetttröpfchen handelte. Eine Reihe weiterer Untersuchungen mit verschiedenen Hefearten (von Würzeagar oder aus Bierwürze) mit Oospora lactis und mit dem Körnchenbakterium aus dem Yoghurt (Thermobacterium bulgaricum Orla Jensen), bei denen Neutralrot-Vitalfärbungen und in Parallelpräparaten Neutralrot- und Löfflerblaufärbungen nach Abtötung mit Formaldehyd (nach der Neutralrot- oder Löfflerblaufärbung kann eine Plasmaentfärbung mit 1proz. Schwefelsäure stattfinden) zur Verwendung kamen, zeigten in allen Fällen übereinstimmende Ergebnisse. Die mit Neutralrot in lebenden Zellen sich rot färbenden runden Körper sind demnach Volutin.

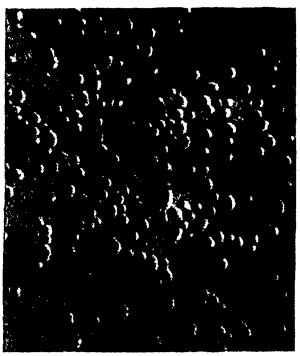


Abb. 1. Eutorula casei. Vitalfärbung mit Neutralrot = Volutinkugelchen rot. (500 ×.)

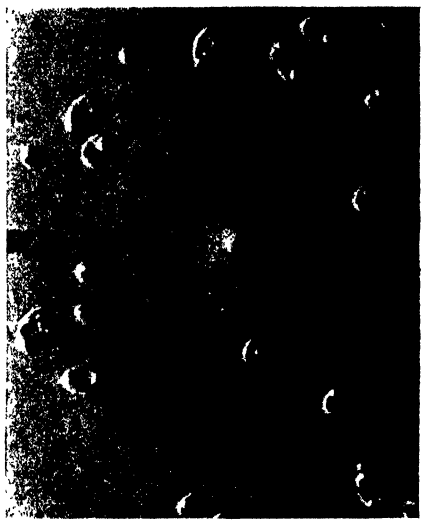


Abb. 2. Eutorula aus einer mit Neutralrot gefärbten Würzeagarkultur. Volutin rot, Fett weiß. (750 ×.)

Zweckmäßig mischt man zur mikroskopischen Untersuchung ein kleines Tröpfchen der Hefeaufschwemmung oder dgl. mit einem gleich großen Tröpfchen 0.001proz. wässeriger Neutralrotlösung auf dem Objektträger oder läßt zum Hefepräparat die Neutralrotlösung von der Seite her unter das Deckglas fließen. Je nach dem „physiologischen" Zustand der Hefezellen ist das Bild verschieden. Bei toten Zellen färbt sich der gesamte Zellinhalt sogleich tiefrot. Bei einem Teil der aus gärender Würze oder dgl. entnommenen Hefezellen treten sehr bald ein oder mehrere in der Vakuole lebhaft umherschwingende, verschieden große, rote Volutinkügelchen auf. In anderen Zellen liegen ein größeres oder mehrere kleinere rote Volutinkügelchen fest im Plasma oder das Volutin wölbt sich halbkugelig vom Rand aus in die Vakuole hinein. Bisweilen bedeckt das Volutin in schmaler Schicht einen Randteil der runden Vakuole. Allmählich färbt sich bei einem Teil der Zellen die ganze Vakuole zuerst hellrot, dann dunkelrot, ein Zeichen, daß die Hefe den Farbstoff aufnimmt und in die Vakuole ausscheidet. Das

Plasma bleibt dabei völlig ungefärbt. War die Gärung in der Würze oder dgl. schon weiter vorgeschritten, bleibt der Zellinhalt bei einem größeren Teil der Hefezellen ungefärbt, die Farblösung (in obiger Verdünnung) dringt hier nicht in die Zellen ein. Das geht auch daraus hervor, daß nach Abtötung mit Löfflerblau gefärbte Parallelpräparate in allen Zellen einen mehr oder weniger großen Volutinbestand aufwiesen. Nach einiger Zeit sterben die Zellen mit rotgefärbten Vakuolen oder rotgefärbtem Volutin ab (z. B. in einem Versuch mit Bierhefe 50% nach 1½ Std.). Bei dem Vergleich der Volutintröpfchen in den Neutralrot-Vitalpräparaten und in den Löfflerblau-Formaldehydpräparaten[1]) ergeben sich besonders bei Hefezellen aus frischen Gärungen bemerkenswerte Unterschiede. Im letzteren Fall ist das Volutin meist in vielen kleinen runden Tröpfchen („Arbeitsform") vorhanden, während bei den Vitalfärbungen ein Zusammenfließen zu einem großen oder einigen weniger großen Tröpfchen stattfindet. Anders ist es, wenn die Hefe aus älteren Agarkulturen entnommen wurde. Hier handelt es sich oft um je einen großen runden Volutintropfen (Volutin in Ruheform), der sich sowohl bei der Vital- als auch bei der Löfflerblaufärbung — bisweilen auch schon im unbehandelten Präparat — nachweisen läßt.

Es sei bemerkt, daß das Neutralrot auch in lebenden Hefesporen je eine Volutinkugel sichtbar macht. Auf Würzeagar mit 0,001—0,005% Neutralrot wachsen, soweit geprüft, die meisten Hefearten trotz des rotgefärbten Volutins in vielen Zellen gut. Die Bierhefe wurde erst durch 0,01% gehemmt.

Zusammenfassung.

Mit sehr verdünnter Neutralrotlösung färbt sich in lebenden Hefezellen (ebenso, soweit geprüft, in Bakterien und Schimmelpilzen. z. B. Oospora) das Volutin tiefrot. Da hierbei das oft fein verteilte Volutin bald zu größeren Kugeln zusammenfließt, gelingt der Nachweis der feinen oder diffusen Verteilung — z. B. sehr bald nach Zuckerlösungszusatz zur Hefe — wie bisher nur mittels schneller Abtötung (Formaldehyd) und darauffolgender Löfflerblaufärbung.

[1]) Henneberg, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 45. 1916.

Nachdruck verboten.

Die Entwicklungsgeschichte der Bodenmykobakterien.

Vorläufige Mitteilung.

[Aus dem mikrobiologischen Laboratorium der Akademie der Wissenschaften in U. S. S. R.]

Von **N. A. Krassilnikow.**

Mit 7 Abbildungen im Text.

Die Mykobakterien stellen eine sehr verbreitete Gruppe von Mikroorganismen dar, die jedoch mit Ausnahme der pathogenen Formen (Tuberkel- und Diphteriebakterien) sehr wenig untersucht worden sind. In der Literatur finden wir nur einzelne Hinweise auf ihre Physiologie [Merill (8), Braun (1), Gray and Thornton (3), Konda (7)] und noch weniger Hinweise auf ihre Morphologie und ihren Entwicklungszyklus. Haag (4), Vierling (9), Erskow (10) und Jensen (6) entwickeln ihre Ansicht über die Phylogenie dieser Mikroorganismen und bringen sie in Zusammenhang mit den Aktinomyceten[1]).

In der vorliegenden kurzen Mitteilung bespreche ich meine eigenen Beobachtungen über die Entwicklung einzelner Formen von Mykobakterien, welche von mir im Jahre 1932 den Böden des Trans-Wolgagebietes entnommen wurden.

Es wurden von mir 35 Stämme von Mykobakterien isoliert.

Nach ihren kulturellen und morphologischen Merkmalen, sowie nach der Entwicklungsgeschichte unterscheiden sie sich mehr oder minder voneinander. Die charakteristischsten von ihnen wurden im hängenden Tropfen von Bierwürze-Agar und Fleischpepton-Bouillon beobachtet zwecks Feststellung ihres Entwicklungszyklus; die meisten der Mykobakterien wurden auf verschiedenen Nährböden und in verschiedenen Verhältnissen untersucht.

Unsere Untersuchungen brachten uns zu folgenden Ergebnissen:

Die einzelnen Stämme der Mykobakterien unterscheiden sich voneinander nach der Konsistenz und der Färbung der Kolonien, sowie nach dem Entwicklungszyklus und der Zellform.

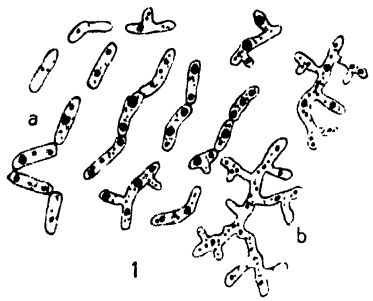
Ihrem Äußeren nach sind die Kolonien bei einigen Stämmen schleimig, mehr oder minder flach und über die Oberfläche des Substrats hinfließend (St. Nr. 17); bei anderen sind die Kolonien von fester, teigartiger Konsistenz, glatt, glänzend (St. Nr. 2); noch andere Stämme, die seltener vorkommen, haben höckerige oder körnige Kolonien, die sich hautartig über die Substratoberfläche hinziehen, jedoch die letztere nicht durchdringen und mit ihr nicht verwachsen sind (St. Nr. 4).

Die Mykobakterien sind farblos oder gelblich-rosa, rosa, rot und grünlichbraun. Sie entwickeln sich gut auf Fleischpepton-Agar und weniger gut oder sogar überhaupt nicht auf Bierwürze-Agar. Auf natürlichen Substraten — Kartoffel- und Möhrenscheibchen, sowie auf vielen künstlichen Nährböden — entwickeln sie sich mit ungleicher Intensität.

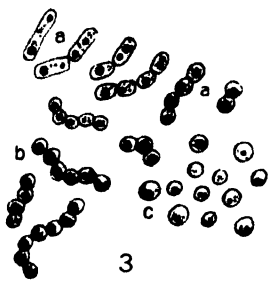
Was die Entwicklungsgeschichte der Mykobakterien betrifft, so ist sie weniger verschiedenartig. Bei Stämmen mit schärfer ausgeprägtem Typus

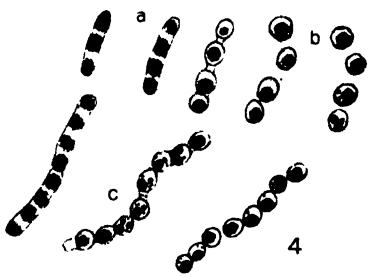
[1]) Vgl. meinen Artikel in der Zeitschrift „Priroda" (Die Natur). Leningrad. Jahrg. 1933. Nr. 12.

(Nr. 1, 3, 17) bilden sich auf Fleischpepton-Agar oder auf Fleischpepton-Gelatine (im hängenden Tropfen) anfangs stäbchenförmige Zellen von 2,5—8 × 0,8 μ. Die Stäbchen sind gewöhnlich gekrümmt und oft mit kurzen Seitenzweigen versehen (Abb. 1); das Plasma der Zellen ist homogen, hell; die Vermehrung findet durch Teilung oder Sprossung statt, wobei der Sprossungsprozeß mit der Bildung von Seitenzweigen nicht verbunden ist (obgleich letzteres nicht ausgeschlossen ist). Gewöhnlich bildet sich der Sproß am Ende der Zelle; anfänglich erscheint im Plasma unter der Hülle ein feines



Körnchen, das sich mit Methylblau oder anderen Kernfarben färben läßt (Abb. 2); darauf wölbt es sich zu einem Höckerchen an der Oberfläche der Zelle (Abb. 2 b), nimmt an Dimensionen zu und erreicht den Querdurchmesser der Mutterzelle. In diesem Zustande hat der Sproß das Aussehen einer sehr kurzen Kette oder eines Kokkus, der mit der Mutterzelle mittels einer kaum merkbaren Verschnürung verbunden ist. Darauf zieht sich der Sproß in die Länge, erreicht die größten Dimensionen und geht seinerseits zur Teilung oder Sprossung über (Abb. 2 d).



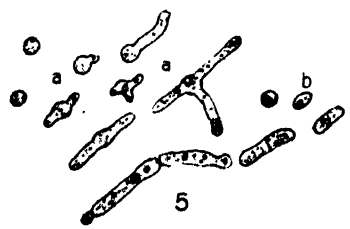


Die Prozesse der Sprossung und der Teilung gehen gleich schnell vor sich. Bei einer Temperatur von 15—17° bildet sich im hängenden Tropfen von Fleischpepton-Agar annähernd alle 55—75 Min. ein neuer Sproß oder es geht eine neue Teilung vor sich. Nachdem ungefähr im Laufe von 24—28 Std. ein solcher Vermehrungsprozeß im hängenden Tropfen stattgefunden hat, werden die Zellen mit jeder neuen Teilung kürzer und die Zellen erreichen schließlich eine kugelartige Form (Abb. 3). Die kugeligen Zellen vermehren sich weiter und die ganze Kultur erhält ein Aussehen, das demjenigen der Mikrokokken gleicht. Viele Stämme (Nr. 5, 6, 9 u. a.) behalten die Stäbchenform nur während der ersten 24 Std. ihrer Entwicklung, oder

sogar noch kürzere Zeit (12—16 Std.) bei, darauf verwandeln sie sich in Kokken und entwickeln sich in diesem Zustande weiter, bis das Wachstum der Kultur aufhört. Solche Stämme wurden von mir zuerst in die Gattung Micrococcus eingereiht und erst später beim Kultivieren auf anderen Nährböden (Bierwürze, Gelatine, Bodenextrakt mit Zucker) offenbarte sich ihr eigentliches Wesen, weshalb sie in die Gruppe der Mykobakterien eingereiht werden müssen.

Gleichzeitig mit dem eben beschriebenen Vermehrungsprozeß der Zellen findet bei vielen Mykobakterien eine andere Reproduktion statt. Nach einer mehr oder minder anhaltenden Periode der Teilung und Sprossung bilden die Zellen im Inneren besondere reproduktive Körperchen, die nach Aussehen und Form an die Sporen der Aktinomyceten erinnern. Der Prozeß ihrer Bildung im hängenden Tropfen und bei Massenkulturen in Reagenzgläsern wurde mikroskopisch an lebenden und nach verschiedenen Methoden gefärbten Präparaten beobachtet. Im Inneren der Zellen zerfällt das Plasma anfangs in abgesonderte Teile oder Fragmente, wobei gewöhnlich in jeder Zelle 3—5, am häufigsten 4 Teile beobachtet wurden (Abb. 4 a); darauf runden sich diese Fragmente leicht ab, weisen mehr oder minder starke Konturen auf und verwandeln sich in einzelne selbständige reproduktive Organe, welche ich aus Analogie mit den Aktinomyceten vorläufig als „Sporen" bezeichne. Diese Sporen haben eine rundliche, oft unregelmäßig kugelige Form von 1 μ im Durchmesser. Im Aussehen und Charakter unterscheidet sich das Plasma der Sporen wenig vom Plasma der vegetativen Zellen. Es ist nicht dick und nicht stark lichtbrechend, enthält im Innern einen großen Metachromatinkern, welcher oft die ganze Zelle ausfüllt (Abb. 4 b). Die Hülle der Mutterzelle wird im Laufe der Ausbildung und des Reifens der Sporen immer weniger deutlich und ist zum Schluß des Prozesses in den lebenden, nichtgefärbten Präparaten überhaupt nicht mehr zu sehen. Doch nach Färbung der Zellen mit Eisenhämatoxilin, Fuchsin, Safranin und anderen Farbenstoffen wird die Hülle wieder mehr oder minder deutlich sichtbar. Eine solche Hülle verbindet in Gestalt eines feinen Spinngewebes oder eines Brückchens die Sporen, weshalb letztere lange Zeit zu kurzen 4—5 gliederigen Kettchen vereint bleiben. Manchmal bestehen die Ketten aus 6—10 Gliedern und werden aus Sporen zweier benachbarter Zellen gebildet (Abb. 4 c). Solche Ketten erinnern gewissermaßen an Streptokokken. Die Bildung der Sporen variiert bei verschiedenen Stämmen. Bei einigen Stämmen findet nach einer Reihe von Teilungen im Inneren beinahe sämtlicher Zellen Sporenbildung statt, bei anderen ist sie selten zu finden, auf einigen Nährböden häufiger, auf anderen weniger oft oder kann auch ganz fehlen.

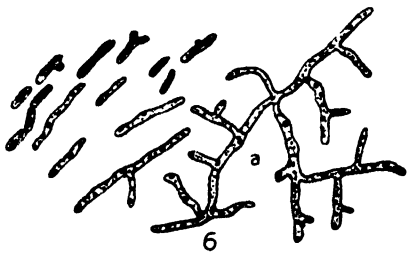
Die Sporen, welche sich entweder von der Kette ablösen, oder sich in derselben befinden, sprossen auf gewöhnliche Art, d. h. an der Oberfläche der Spore bildet sich ein Höckerchen — ein Sproß, welcher sich zu einer stäbchenförmigen Bildung ausdehnt, sich durch eine Querwand abgrenzt, abfällt und sich in eine vegetative Zelle verwandelt. Manchmal bilden sich gleichzeitig 2—3 solcher Auswüchse an einer Spore (Abb. 5 a). Solche Sporen mit Auswüchsen haben große Ähnlichkeit mit kleinen Hefen. Oft verwandeln sich die Sporen einfach in vegetative Zellen: sie ziehen sich in die Länge,



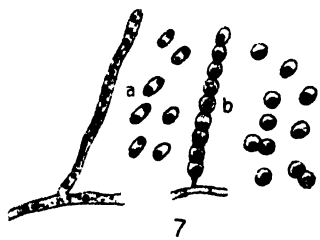
5

nehmen eine ovale und stäbchenartige Form an (Abb. 5 b) und gehen dann zur Vermehrung über.

Ein solcher Entwicklungsverlauf der Mykobakterien ist nicht allen Stämmen eigen. Nicht selten kommen Stämme typischer Mykobakterien vor, deren Zyklus kürzer ist und die unter künstlichen Bedingungen keine Sporen bilden. Der ganze Entwicklungszyklus derartiger Stämme (Nr. 27) läßt sich auf folgendes zurückführen. Nachdem die stäbchenartigen Formen eine bestimmte Größe von 2—7 × 0,6 μ erreicht haben, vermehren sie sich durch Teilung, manchmal auch durch Sprossung, wobei die Sprosse sich bei diesen und jenen am Zellenende bildet. Die Teilung der Zellen findet mittels einer Querscheidewand statt. Die geteilten Zellen trennen sich meist voneinander, doch manchmal behalten sie einen Kontakt in Form von dünnen Fäden. Die Zellen bilden oft Seitenzweige; bei einigen Stämmen ist die Verzweigung gering: 1—2 Zweige an einer Zelle (St. 27), bei anderen ziemlich dicht reichlich, je 5—10 Zweige (St. 35). Auf wenig nahrhaften Nährböden findet die Verzweigung öfter und reichlicher statt, so z. B. auf dem Substrat von Chapec oder auf einer 2proz. Lösung von Asparagin in Leitungswasser, bei einigen Stämmen auch auf Bierwürze-Agar. Im weiteren Wachstum behalten die Zellen ihre stäbchenartige Form, ohne sich



6



7

zu verkürzen und ohne kokkenartige Formen zu bilden. Auch die Bildung von Sporen oder irgendwelchen reproduktiven Formen wird, wenigstens beim künstlichen Kultivieren, in solchen Zellen nicht beobachtet.

Der ganze Entwicklungszyklus dieser Mykobakterien ist der gleiche wie bei vielen Bakterien — Wachstums- und Teilungsstadium —, wenn wir die nicht immer vorkommende Sprossung und Verzweigung nicht in Betracht ziehen. Derartige Stämme und insbesondere diejenigen unter ihnen, bei denen die Verzweigung selten eintritt, oder nur auf besonderen Nährböden beobachtet wird, lassen sich oft nur schwer von nichtsporentragenden Bakterien differenzieren. Sie unterscheiden sich oft nur dadurch, daß die Form der Zellen eine unregelmäßig zylindrische ist; sie haben gewöhnlich ungleiche Konturen, sind gekrümmt, eckig und mit aufgetriebenen Knötchen, so daß man sie bei gewisser Übung doch von den Bakterienstäbchen unterscheiden kann. Solche Mykobakterien kommen im Boden viel seltener vor als die ersterwähnten. Von 35 Stämmen erwiesen sich nur 7 als bakterienähnlich.

Noch seltener kommen Stämme vor, die ihrer Entwicklung und Form nach an Aktinomyceten erinnern. Mir gelang es, nur einen solchen Stamm zu erhalten (Nr. 4). Der Zyklus seiner Entwicklung ist folgender: während der ersten 24 Std. auf Bierwürze-Agar sind die stäbchenähnlichen, gekrümmten, ziemlich langen (10—25 μ) mit Seitenzweigen versehenen Zellen

zu langen myzelähnlichen Fäden vereint Abb. 6 a), welche leicht in einzelne Zellen zerfallen. Im weiteren Verlauf teilen sich einige Zellen und Zweige in kurze zylindrische Körperchen — „Sporen". Auf wenig nahrhaften Substraten ist die Oberfläche der Kolonie mit einem mehlig-weißen Anflug bedeckt, der aus kurzen, in die Luft ragenden sporenbildenden Zweigen besteht (Abb. 7 a u. b). Beim Umimpfen auf ein frisches, nahrhaftes Substrat wachsen die Sporen zu langen Zellfäden aus. Solche Stämme stehen den Aktinomyceten nahe und sind als Zwischenformen anzusehen (Proactinomycetes).

Es kommen demnach 3 Gruppen von Mykobakterien in Betracht, welche sich mehr oder minder scharf voneinander unterscheiden bezüglich des Entwicklungszyklus, der Form und der Größe der Zellen:

1. Mykobakterien mit Bildung von kokkenähnlichen Formen und „Sporen".
2. Mykobakterien ohne kokkenähnliche Formen und ohne „Sporen".
3. Mykobakterien, die den Aktinomyceten nahestehen.

Die massenhafte Bildung kokkenähnlicher Formen bei der ersten Gruppe erschwert oft ihre Differenzierung von den Mikrokokken. Wie schon erwähnt wurde, bestehen viele auf Fleischpepton-Agar gezüchtete Stämme schon nach 12—16 Std. nur aus kokkenähnlichen Zellen, und wenn solche Stämme, wie es gewöhnlich der Fall ist, nach 24—48 Std. mikroskopisch untersucht werden, so kann es vorkommen, daß das Stäbchenstadium und die Verzweigung nicht festgestellt werden und die Kulturen sich dann von den Mikrokokken schwer unterscheiden lassen.

Hücker (5) und darauf Conn (2) fanden bei ihren Untersuchungen kokkenähnlicher Formen der Bakterien, daß viele derselben ihre Form scharf ändern — sich in Stäbchen verwandeln — und daß letztere nach einiger Zeit wieder Kokkenform annehmen. Sich darauf stützend kommen beide Autoren zu dem Ergebnis, daß zwischen den kokkenähnlichen und den stäbchenförmigen Bakterien kein scharfer Unterschied besteht. Es ist möglich, daß genannte Autoren in einigen Fällen es nicht mit kokkenähnlichen Bakterien, sondern mit einer ganz anderen Gruppe — den Mykobakterien — zu tun hatten; letzteres ist um so wahrscheinlicher, als Conn bei solchen Bakterien mehrfach das Bestehen von fadenähnlichen, verzweigten Formen erwähnt.

Wie schwierig manchmal die Differenzierung von Mykobakterien und Kokken sein kann, bestätigen unsere Untersuchungen der Böden im Wolgagebiet im Jahre 1932. Beim Aussäen frischer Bodenproben auf Fleischpepton-Agar in Petri schalen sprossen gewöhnlich eine Menge verschiedenartiger Bakterien, unter denen die kokkenähnlichen Formen einen bedeutenden Prozentsatz ausmachten. Auf Grund mikroskopischer Untersuchungen wurden diese Formen anfangs irrtümlich alle von uns als Mikrokokkus klassifiziert, der größte Teil der isolierten Stämme erwies sich bei genauerem Studium aber als zu den Mykobakterien gehörig.

Dieser Umstand bewog uns, einige der mitgebrachten Bodenproben einer Nachprüfung zu unterwerfen. Es wurde nochmals in Schalen auf Fleischpepton-Agar gesät, wobei die erhaltenen kokkenähnlichen Formen sorgfältig differenziert wurden. Wir erhielten folgende Resultate: einige Böden enthalten sehr viel verschiedenartige Mykobakterien, in anderen kommen letztere selten vor; bei einigen Böden fielen bei der Aussaat in Schalen bis 70% der Gesamtzahl der Kolonien auf die Mykobakterien.

Als diese Zahlen mit den Daten der chemischen Analyse[1]) zusammengestellt wurden, ergab es sich, daß die humusreichen Böden mehr Mykobakterien enthielten und daß die Zahl der letzteren in humusarmen oder humuslosen Böden sehr gering war (Tab. 1).

Tab. 1. Verbreitung der Mykobakterien in verschiedenen Böden. (Aussaat in Petri-Schale, 0,0001 g Boden.)

Nr. der Bodenprobe	Humus nach Knopp (in mg)	Zahl der Kolonien		Mykobakterien in %	Charakteristik der Böden
		Bakterien	Mykobakterien		
17	kein	140	keine	—	Solonetz
50	5,01	650	200	30,7	Schwarzerde
57	6,68	2800	2000	71,4	Schwarzerde
95	2,94	2600	2800	10,8	—

Leider waren die Bodenproben verschiedenen Ursprungs, weshalb wir es für voreilig halten, irgendwelche bestimmte Schlüsse zu ziehen; doch weisen sie deutlich genug darauf hin, daß weitere Untersuchungen notwendig sind.

Sämtliche hier angeführte Daten zeigen, daß die Bodenmykobakterien einen eigenartigen Entwicklungszyklus haben. Die Bildung von „Sporen", welche als Vermehrungsorgane dienen, erscheint als ein normales Stadium in diesem Zyklus. Eine genaue Untersuchung der Bedingungen der Sporenbildung und überhaupt des Entwicklungszyklus kann eine Aufklärung über die Eigentümlichkeiten der Entwicklung pathogener Formen von Mykobakterien (Tuberkel- und Diphteriebakterien) geben und gleichzeitig auch über das Wesen der intrazellularen Körperchen, welche in den Kulturen ziemlich oft beobachtet und von vielen Autoren für Reproduktionsorgane angesehen werden.

Die Mykobakterien sind in manchen Böden, besonders in solchen, die viel Huminsubstanzen enthalten, sehr verbreitet. Es ist nicht ausgeschlossen, daß sie bei der Zersetzung des Humus aktiv beteiligt sind.

Die Arbeit wurde unter Leitung von Prof. Dr. G. A. Nadson ausgeführt und ich halte es für meine Pflicht, ihm hiermit meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen. Auch Dr. G. K. Burgwitz bin ich für seinen freundschaftlichen Beistand und seine wichtigen Hinweise zu großem Dank verpflichtet.

Zusammenfassung.

Aus Böden des Transwolgagebietes wurden 35 Stämme von Mykobakterien isoliert und ihre kulturellen und morphologischen Merkmale beschrieben. Sie werden in 3 Gruppen unterteilt: 1. Mykobakterien mit Bildung von kokkenähnlichen Formen und „Sporen"; 2. Mykobakterien ohne kokkenähnliche Formen und ohne „Sporen"; 3. Mykobakterien, die den Actinomyceten nahestehen (Proactinomyceten).

[1]) Die Resultate der chemischen Analyse wurden mir von N. M. Souchkina überlassen, wofür ich ihr hiermit meinen Dank ausspreche.

Literatur.

1. Braun, Stomatelakis und Kondo, Biochem. Ztschr. Bd. 145. 1924. S. 38. — 2. Conn, N. Y. Agr. Exp. Stat. Bull. No. 115. 1925. p. 3 und Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 76. 1928. S. 65. — 3. Gray und Thorton, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 73. 1927. S. 74. — 4. Haag, Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 71. 1927. S. 1. — 5. Hucker, N. Y. Agr. Exp. Stat. Techn. Bull. No. 100. 1924. — 6. Jensen, Proceed. Linn. Society. Vol. 56. 1931. No. 234. p. 79. No. 236. p. 345. — 7. Kondo, Biochom. Ztschr. Bd. 153. 1924. Bd. 155. 1925. S. 148. — 7. Merrill, Journ. of Bacter. Vol. 21. 1931. p. 361, 375. — 9. Vierling, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 52. 1931. S. 193. — 10. Orskow, zit. von Henrici, Molds, yeasts and Actinomycetes. London. 1930.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Herrmann, R., Die Bodensäure, ihre Entstehung und Wirkung, ihre Ermittlung und Beseitigung. Mit einem Vorwort von Professor Dr. F. Mach. 31 S., 5 Abb. Verlag Eugen Ulmer (Stuttgart) 1934. Preis 1.60 RM.

Eine kurze, aber sehr klare, auch dem auf chemischem und physikalischem Gebiete weniger Bewanderten verständliche Darstellung über unsere derzeitigen Kenntnisse von der „Bodensäure", ihrer Bildung, ihrem Nachweis, ihrer Bedeutung, ihrer Verbreitung und ihrer Unschädlichmachung. Man erfährt hier, daß von 800 000 ha landwirtschaftlich genutzter Fläche in Baden etwa 250 000 ha an Bodensäure „krankten", zu deren „Gesundung" etwa 2 500 000 dz Kalk benötigt werden. Stapp.

Henneberg, W., Bakteriologische Molkereikontrolle. Mikroskopische Bestimmung der für die Milchwirtschaft nützlichen und schädlichen Bakterien-, Hefen- und Schimmelpilzarten. 84 S., m. 122 Textabb. Verlag P. Parey (Berlin) 1934. Preis geb. 6.60 RM.

Es ist sicherlich für den Milchbakteriologen ein erstrebenswertes Ziel, mit Hilfe von „Schnellanalysen" über den Wert und die Beschaffenheit der zu untersuchenden Frisch- oder Käsereimilch bzw. ihrer Produkte ein rasches und dabei doch zuverlässiges Urteil zu gewinnen. Verf. legt dabei, gestützt auf etwa 40jährige Erfahrungen, den Hauptwert auf die Erkennung der in Frage kommenden Mikroorganismen im mikroskopischen Bild. „Hat man sich erst einmal im Unterricht oder durch Selbstunterricht an der Hand von guten Abbildungen einen Überblick über die verschiedenen Formen verschafft, so ist in sehr vielen Fällen die Artbestimmung eine leichte Aufgabe", heißt es in der Einleitung, die den Zweck der „Federstrichkultur" behandelt. Im ersten Teil sind allgemeine Angaben gemacht über die Herstellung der Federstrichkultur und das morphologische und teilweise auch physiologische Verhalten der verschiedenen Mikroorganismen in diesen Kulturen; im zweiten Teil ist die Bestimmung der Kleinpilzarten in Wasser, Salz, Milch, Kefir, Yoghurt, Rahm, Butter, Käse usw. kurz erläutert.

Es ist zuzugeben, daß durch den Spezialisten viele Pilze und auch einige charakteristische Bakterien allein mit Hilfe des Mikroskops identifiziert werden können, daß aber ein Anfänger oder der weniger Geübte z. B. auf

Grund der folgenden Beschreibungen (S. 24) richtige Diagnosen zu stellen vermag, muß bezweifelt werden:

„Bact. pyogenes. Erreger der oft tödlichen Weide-Euterseuche (bei der die Milch grünlich und übelriechend wird). Staubförmig verteilte zarte Stäbchen."

„Bact. abortus infectiosi, ‚Bangbakterium'. Erreger des seuchenhaften Verkalbens. Sehr kleine (oft nur 0,3 : 0,2 μ) stäbchenförmige Zellen ohne Bewegungsvermögen. In Vollmilchfederstrichen oft Geldrollenformen, keine Fettspaltung."

Es besteht vielmehr die große Gefahr, daß er auf Grund solcher unzureichender Anweisungen in eine gewisse Oberflächlichkeit verfällt.

Was die Abbildungen betrifft, so zeichnen sich die meisten Photos durch sehr gute Anschaulichkeit aus, während die Federzeichnungen vielfach ihrem Zweck nur unvollkommen entsprechen dürften. Stapp.

Allgemeines und Methodisches.

I. G. Farbenindustrie A.-G., Verfahren zur Herstellung künstlicher Nährböden. (DRP. Nr. 570 076, vom 26. Jan. 1933.)

Es wurde gefunden, daß brauchbare, den Fleischnährmedien vollständig gleichwertige künstliche Nährböden für Bakterienzüchtung in einfacher Weise aus stark eiweißhaltigen vegetabilischen Stoffen herstellbar sind, wie sie aus der Sojabohne durch Entlezithinen und Entfetten herstellbar sind. Schon Konzentrationen von 0,5—1% des so gewonnenen Sojabohnenmehls können die sonst üblichen Fleischnährböden vollständig ersetzen. Bei eingehenden Untersuchungen stellte es sich heraus, daß sämtliche Mikroorganismen weder in ihrer Morphologie noch in ihrer Virulenz gegenüber den auf Fleischextrakt gezüchteten Stämmen Schädigungen erleiden. Selbst die kompliziertesten Elektivnährböden, bei denen die Farbumschläge das ausschlaggebende der Gruppenreaktion sind, lassen sich auf diese Weise herstellen. Trübungen treten niemals auf, da die beschriebenen Nährböden von vornherein fast glasklar und von jeder Opaleszenz frei sind.

Limbach (Leipzig).

Pharm. Werke „Norgine" und **Hermann, S.,** Verfahren zur Herstellung von therapeutisch wirksamen Präparaten. (DRP. Nr. 578 594, vom 24. 5. 1933.)

Das Verfahren besteht im wesentlichen darin, daß kohlenhydrathaltige Nährlösungen der Einwirkung eines bis dahin unbekannten, als Bact. gluconicum bezeichneten Mikroben ausgesetzt werden, woraus therapeutisch wirksame, insbesondere zur Bekämpfung von Alterserscheinungen und Stoffwechselerkrankungen geeignete Präparate resultieren. Der Organismus wurde aus dem in der Kombucha vorhandenen Pilzgemenge isoliert und erwies sich als starker Glukonsäurebildner. Er bildet kleine, kurze, sehr bewegliche Stäbchen, die meist zu zweit auftreten. Auf Würzeagar, Würzegelatine und Biergelatine zeigt er sich als glänzender, fleischfarbiger Belag von salbenartiger Beschaffenheit. Bei 39° findet noch Bakterienentwicklung statt; bei 40° hört das Wachstum auf. Aus Traubenzucker werden sehr bedeutende Mengen von Glukonsäure gebildet (bis zu 80% des Zuckergewichts); lävulosehaltige Nährlösungen führen zur Bildung von Essigsäure, neben geringen Mengen von nichtflüchtiger Säure. — Von den bekannten Glukonsäurebakterien vermag nur B. industrium und B. oxydans vergleichsweise erhebliche Mengen von Glukonsäure aus Glukose zu bilden. Der neue Organismus unterscheidet sich jedoch von den genannten beiden Spezies schon dadurch, daß er ohne Hautbildung wächst;

ferner vermag er Maltose nicht zu säuern. Auch mit anderen, vornehmlich von Henneberg angegebenen Bakterien kann Bact. gluconicum zufolge festgestellter morphologischer und physiologischer Verschiedenheiten nicht identifiziert werden, weshalb Verff. die Neubenennung des von ihnen isolierten Mikroben voll gerechtfertigt glauben.

Limbach (Leipzig).

I. G. Farbenindustrie A.-G., Verfahren zur Gewinnung von das Zellwachstum regelnden Hormonen. (DRP. Nr. 577 258, vom 11. Mai 1933.)

Bekanntlich enthalten pflanzliche Organismen Stoffe, die das Wachstum zu beeinflussen vermögen. Mittels des vorliegenden Verfahrens gelangt man zu ebensolchen Stoffen, wenn man Nährsubstrate, wie sie bei der Züchtung von Bakterien, Algen und Pilzen anfallen, in der für die Gewinnung von Brunst erzeugenden Hormonen üblichen Weise verarbeitet. Hierzu verfährt man derart, daß man aus den Kulturen zunächst die Bakterien, Algen oder Pilze abtrennt, das Filtrat direkt oder nach vorsichtigem Einengen, gegebenenfalls bis zur Trockne, mit einem organischen Lösungsmittel extrahiert, den Extrakt vom Lösungsmittel befreit und den Rückstand auf einen bestimmten Wirkungswert einstellt. Aus den genannten Merkmalen des Verfahrens ergibt sich die bemerkenswerte Tatsache, daß die Organismen das Hormon in das Nährsubstrat absondern. Eine vergleichende Prüfung ergab, daß im Verlauf des Wachstums der Organismen viel mehr wirksame Substanz in das Nährsubstrat ausgeschieden wird, als jeweils in den Zellen selbst enthalten ist. Daraus folgt zugleich, daß das Verfahren den von den Mikroorganismen erzeugten wirksamen Stoff in erhöhter Ausbeute zu gewinnen gestattet. — Gearbeitet wurde mit Rhizopus reflexus, Bact. coli, Mucor mucedo und Bact. vulgare.

Limbach (Leipzig).

I. G. Farbenindustrie A.-G., Verfahren zur Gewinnung von Substanzen, die geeignet sind, das Wachstum von tierischen Zellen anzuregen und zu erhalten. (DRP. Nr. 569 973, vom 19. Jan. 1933.)

Stoffe, die imstande sind, Zellvermehrung explantierter Warmblüterzellen zu veranlassen, können nach dem vorliegenden Verfahren in technisch vorzüglicher Weise erhalten werden, indem man Zellpreßsäfte oder Extrakte, Eiweißstoffe oder aber deren Abbauprodukte gegebenenfalls durch geeignete Salzlösungen verdünnt, nach Zusatz von Mikroorganismen, die keine Ektotoxine bilden (am besten Bakterien der Coligruppe), einige Zeit der Bebrütung unterwirft, bis durch ein biologisches Testverfahren (am besten das von Ebeling, Journ. of exp. medic. Vol. 34. 1921. p. 231) festgestellt werden kann, daß die von den Bakterien abgetrennte Flüssigkeit das Maximum an zellwachstumsfördernden Substanzen enthält. Die nach dem neuen Verfahren erhaltenen Stoffe zeichnen sich gegenüber den von Carrel und Baker gewonnenen dadurch aus, daß sie eine wesentlich nachhaltigere Wirkung hinsichtlich Anregung und Unterhalt der Zellvermehrung aufweisen. Limbach (Leipzig).

Kalle & Co., Verfahren zur Herstellung von Heil- und Impfstoffen. (DRP. Nr. 582 754, vom 3. Aug. 1933.)

Heil- und Impfstoffe von hohem Reinheitsgrad kann man erhalten, wenn man Bakterienstämme der Subtilis-, Mesentericus- oder Mycoides-

gruppe auf den z. B. durch Abschleudern oder Abschwemmen von den in üblicher Weise zur Züchtung verwandten flüssigen oder festen Nährböden getrennten und in einem einfach zusammengesetzten Nährboden aufgeschwemmten Bakterien züchtet. Die in der Aufschwemmung befindlichen Bakterien werden hierbei durch die Lysin bildenden Bakterien in Lösung gebracht. Es können sehr dichte Aufschwemmungen von Bakterien in verhältnismäßig geringen Mengen Nährboden verwandt werden, so daß es möglich ist, hochkonzentrierte Produkte zu erhalten. In derselben Weise wie Bakterien können auch Protozoen oder beliebige Organzellen tierischer und menschlicher Herkunft in einfach zusammengesetzten Nährböden aufgeschwemmt und durch Aufimpfen der Lysin bildenden Bakterien gelöst werden. Limbach (Leipzig).

Schmidt, W., Verfahren zur Reinzüchtung von im Menschen- und Tierkörper parasitisch vegetierenden Kleinlebewesen und zur Gewinnung von besonders wirksamen Kulturen gegen Geschwülste aller Art. (DRP. Nr. 567 566, vom 12. Dez. 1932.)

Das vorliegende Verfahren unterscheidet sich von bisherigen Züchtungsmethoden dadurch, daß man hier nicht mehr Hyphenpilze, wie Mucor racemosus, als Zwischenwirt benutzt und die Mikroben in diesem züchtet, sondern ein neues Nährmedium anwendet, das alle die Stoffe enthält, die zur Züchtung von — sonst auf künstlichen Nährböden nicht wachsenden — Protozoen u. dgl. erforderlich sind. Dieses Nährmedium ist dadurch gekennzeichnet, daß man in einem Liebigs Fleischextrakt, Pepton und Glukose enthaltenden Nährboden Hyphen- oder Sproßpilze oder beide sich bis zu einem bestimmten Zeitpunkt entwickeln läßt, worauf man den so erhaltenen, die Stoffwechselprodukte jener Pilze enthaltenden Nährboden mit den zu züchtenden Parasiten beimpft, nachdem man zuvor die nötige Reinigung durch Filtration vorgenommen hat. Limbach (Leipzig).

Funke, Paul, & Co., Zur Feststellung der Keimzahl geeignetes Rollröhrchen. (DRP. Nr. 589 730, vom 11. Jan. 1933.)

Als Nachteile der Burri-Methode haben sich folgende Umstände erwiesen: 1. Es ist nicht immer möglich, den Inhalt einer Öse gleichmäßig auf die Agarfläche auszustreichen, woraus unregelmäßige Kolonienbildung resultiert; 2. die zu zählenden Kolonien müssen durch die Krümmung des Glases beschaut werden und sind ½ bis 1 cm von der Wandung des Glases entfernt; 3. die für die Entwicklung der Kolonien zur Verfügung stehende Fläche ist sehr klein. — Die genannten Nachteile vermeidet ein neues, dem obigen Hersteller geschütztes Roll-Kulturröhrchen. Es besteht aus einem Reagenzglase, welches an seinem oberen Ende eine Einschnürung aufweist. Das Nährsubstrat wird wie gewöhnlich eingebracht, sterilisiert und nach dem Wiederverflüssigen mit der Öse beimpft. Nun läßt man das Röhrchen bei einer bestimmten Tourenzahl rotieren, wodurch sich die Wände gleichmäßig mit erstarrtem Nährsubstrat überziehen. Die Einschnürung des Röhrchens verhindert ein Herausspritzen des flüssigen Substrates. Man benötigt weit weniger Nährmedium als gewöhnlich; außerdem ist die gewonnene Kulturfläche erheblich größer als bei Schrägagar. Das Verhältnis zwischen Glaspreis und Nährbodenfläche liegt wesentlich günstiger als bei der Platten- und Burri-Methode. Limbach (Leipzig).

Haehn, H., Verfahren zur Gewinnung von Citronensäure mittels Schimmelpilzen. (DRP. Nr. 544 589.)

Das Verfahren zeichnet sich dadurch aus, daß man der Nährlösung geringe Mengen von Atmungsgiften, wie Chinin, Kohlenoxyd, Cyankalium, Schwefelalkali, zufügt. Es wird wie folgt durchgeführt: In einem Rieselapparat nach Art der Essigbildner, der mit Buchenholzspänen gefüllt ist, läßt man 280 ccm einer Nährlösung, bestehend aus Peptonen, Rohrzucker, den üblichen Nährsalzen und 0,08 g Cyankali, rieseln. Die mit Pilzsporen beimpfte Lösung entwickelt in wenigen Tagen ein weißes Myzel, worauf sie mit 1200 ccm einer reinen Rohrzuckerlösung verdünnt wird. Nun tritt unter Grünfärbung des Myzels Sporenbildung ein und die Säuerung beginnt. Die Zitronensäure wird als Kalksalz gewonnen. Limbach (Leipzig).

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virus-Untersuchungen.

Gronchi, V., Incitants dissociatifs et propriétés biochimiques du B. coli. (Soc. Intern. di Microbiol. — Boll. della Sez. Ital. Vol. 5. 1933. p. 334—336.)

Nach der Dissoziationstheorie unterscheiden sich die beiden extremen Formtypen „S" und „R" nicht nur morphologisch, sondern auch in ihrem biologischen Verhalten. Verf. hat aber festgestellt, daß dieses für Bac. coli nicht immer zutrifft. Einige aus Fäkalien gewonnene Stämme wurden teils in Bouillon kultiviert und hierin 20 mal alle 48 Std. übergeimpft und teils bis zu 60 Tagen in dest. Wasser aufbewahrt. Danach hatten alle Stämme ausgesprochenen „R"-Charakter angenommen, ihr biochemisches Verhalten aber bezüglich Indolbildung, Laktosevergärung, Säure- und Gasbildung und Neutralrot-Reduktion war in keiner Weise verändert.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Sangiorgi, G., Dissociation microbienne par les émanations dû radium. (Soc. Intern. di Microbiol. — Boll. della Sez. Ital. Vol. 5. 1933. p. 311—312.)

Nach dreimonatiger Kultur in radioaktiver Nährlösung gelang es Verf., aus einem ursprünglich blutroten Stamm von Bac. prodigiosus eine Form abzuspalten, die das Vermögen zur Farbstoffbildung verloren hat. Er zählt deshalb auch die radioaktive Strahlung zu den Faktoren, die eine Dissoziation bei Bakterien auszulösen imstande sind. Besonders unterstrichen wird die Tatsache, daß es sich bei dieser Strahlung um einen außerhalb der Zelle befindlichen physikalischen Faktor handelt.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Hirsch, W., Weitere Beiträge zu den Problemen des sogenannten „Bacterium typhi flavum". (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 131. 1934. S. 39—48.)

Die Schleimbildung ist, entgegen früheren Untersuchungen, kein unerläßliches Charakteristikum der Gelbkeime. Es gelang Verf., nichtschleimbildende Anteile aus schleimbildenden Gelbstämmen zu isolieren und aus Heu einen von vornherein nur aus nichtschleimbildenden Keimen bestehenden Stamm zu züchten. Die Gelbkeime sind in der Natur weit verbreitet (Luft, Gras, Heu) und haben sich als identisch erwiesen mit den aus Urin, Stuhl und Blut gezüchteten Gelbkeimen. Ihre Umwandlung in Typhusbazillen kann noch nicht für bewiesen gelten, da hierfür keine Einzellkulturen

angewandt wurden. Der Annahme aber, daß aus Einzelkolonien im Plattengußverfahren die Gewinnung reiner Linien möglich ist, steht die einzigartige Fähigkeit der Gelbkeime zur Bildung von geformten Bakterienverbänden (Symplasmen) entgegen. Die Symplasmenbildung ist am stärksten bei 22°, läßt sich aber auch durch ausschließliche Benutzung einer Brutschranktemperatur von 37° nicht mit Sicherheit verhindern.

Rodenkirchen (Duisburg).

Dahr, P., Kultur von Diphtherie- und anderen Korynebakterien in Kohlensäuregas. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 13. 1934. S. 446—447.)

Sämtliche echten Diphtheriebakterien wachsen in Kohlensäure, andere Korynebakterien mit seltenen Ausnahmen nicht. Nachteilig ist, daß die echten Diphtheriebakterien durch Änderung in ihrer Form und durch die mangelhaften oder fehlenden Polkörnchen von den anderen möglicherweise ebenfalls wachsenden Diphtheroiden nicht oder nur schwer im Mikroskop unterscheidbar sind. Rodenkirchen (Duisburg).

Hirsch, W., Über spontan hämolysierende Typhusbazillen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 131. 1934. S. 36—39.)

Die Untersuchungen, die ergaben, daß die Typhusbakterien entgegen früherer Ansicht häufig Hämolyse zeigen, sind deshalb besonders beachtlich, weil sie auf die Bedeutung der Blutplattenbeschaffenheit für das Ergebnis hinweisen. Die Ergebnisse bezüglich Hämolyse schwankten je nach der Blutplattenserie, obwohl immer auf gleichartige Zusammensetzung des Nährbodens geachtet wurde. Serien mit fast 100% negativen Ergebnissen waren solche mit fast 100% positiven Ergebnissen gefolgt. Irgend ein unbekannter Faktor in der Blutplatte war von entscheidendem Einfluß auf das Auftreten hämolytischer Zonen, so daß die Hämolysebefähigung lange Zeit auf anscheinend ungeeigneten Blutplatten latent blieb. Dasselbe gilt für das Auftreten von normalen Kolonien oder von Flatterformen.

Rodenkirchen (Duisburg).

Caroll, W. R., A study of Rhizobium species in relation to nodule formation on the roots of Florida legumes. II. (Soil Science. Vol. 37. 1934. p. 227—241.)

Die untersuchten Knöllchenbakterienstämme der Vigna sinensis-Gruppe verhielten sich hinsichtlich ihres N-Bindungsvermögens recht verschieden, obwohl der Knöllchenansatz keine Unterschiede aufwies. Serologische Untersuchungen bestätigten das Vorhandensein unterschiedlicher Gruppen. Alle 15 untersuchten Crotolariaarten verhielten sich serologisch gleich, 11 von ihnen zeigten in dieser Hinsicht enge Verwandtschaft mit Vigna sinensis. Hiermit stimmte die gegenseitige Vertretbarkeit ihrer Symbionten sowie auch deren serologisch ähnliches Verhalten überein. Die Spezifität der einzelnen Leguminosebakteriengruppen will Verf. durch die Wirksamkeit spezifischer Enzyme erklären, deren jedes in der Lage ist, nur die besonderen organischen N-Verbindungen des betreffenden Symbionten auszunutzen. Engel (Berlin).

Tomoda, Y., Cellulosegärung durch thermophile Bakterien. (Journ. Soc. chem. Ind. Japan. Bd. 35. 1932. S. 534—536 B; Referat in Brennstoffchemie. Bd. 14. 1933. S. 94.)

Verf. beschreibt einen eine Form von Clostridium thermo-

cellum darstellenden Organismus, der imstande ist, bei 65° C zellulosehaltiges Material zu vergären. Hinsichtlich Kupferzahl, Viskosität und Gehalt an α-, β- und γ-Zellulose unterscheidet sich die angegriffene Zellulose nicht vom Ausgangsmaterial. Naturstoffe, wie Baumwolle, Hanf usw. werden leichter angegriffen als Kunstprodukte (Kunstseide, Cellophan, Nitrozellulose, Azetatseide). Die Vergärbarkeit sieht Verf. weniger in der kolloidalen Struktur, sondern vielmehr in der Porosität bedingt.

Limbach (Leipzig).

Pochon, M. J., Influence du milieu de culture sur les proprietés biologiques d'une bactérie cellolytique de la panse du boeuf. (Comp. rend. de l'Acad. sciences. T. 198. 1934. p. 1808.)

Verf. isolierte aus dem Inhalt des Rinderpansens ein zellulosezersetzendes Bakterium Plectridium cellulolyticum. Die Weiterzucht gelang zunächst nur auf dem natürlichen Substrat, d. h. verdünntem und filtriertem Panseninhalt. Der Zellulosezersetzer gewöhnte sich jedoch langsam an ein fest synthetisches Nährmedium, so daß es möglich war, seine physiologischen Eigenschaften näher zu studieren. Er wuchs am besten bei schwach alkalischer Reaktion, etwa p_H 8,00, war sowohl anaerob wie aerob, konnte von organischen NH_4-Salzen als alleiniger N-Quelle leben usw., ohne sein Zellulosezersetzungs-Vermögen einzubüßen. Nach mehr als 20-monatiger Weiterzüchtung auf dem künstlichen Substrat waren morphologische Veränderungen nicht eingetreten. Wie weit die Gewöhnung fortgeschritten war, erhellt daraus, daß die unmittelbare Beimpfung des synthetischen Nährsubstrates mit Panseninhalt zu keiner Entwicklung des Zellulosezersetzers führte.

Engel (Berlin).

Bekker, S., Zur Frage des Einflusses von CO_2 auf die Mikroflora des Kornes (Weizen). (Microbiology. Vol. 2. 1933. Nr. 4. p. 360—368.) [Russisch.]

Es wurde der Einfluß verschiedener CO_2-Konzentrationen (bei beständigem O_2-Gehalt von 21% in der Gasmischung) auf das Wachstum und die Sporenbildung verschiedener Pilze, wie auch auf das Wachstum einiger Bakterien untersucht. Die Mikroorganismen wurden von der Oberfläche in offenen oder geschlossenen Gefäßen aufbewahrter Weizenkörner isoliert. Die Versuche hatten den Zweck, die Möglichkeit der Aufbewahrung des Kornes in geschlossenen Behältern, bei Anhäufung des sich bildenden CO_2 festzustellen. Das Wachstum verschiedener Mucoraceae und verschiedener Arten von Penicillium, Aspergillus und anderer Pilze hört bei 75—90% CO_2 auf. Unter dem Einfluß von CO_2 verändern sich die morphologischen und kulturellen Eigenschaften der Pilze. Am widerstandsfähigsten gegen CO_2 erwiesen sich die in geschlossenen Behältern gefundenen Mikroorganismen — Oospora variabilis und Micrococcus pyogenes albus. Die Widerstandsfähigkeit von Oospora variabilis und Mucor circeneloides beruht nach Ansicht des Verf.s auf ihrer Fähigkeit, hefeähnliche Zellen zu bilden und unter CO_2-Bildung zu gären.

A. Imšenecki (Leningrad).

Birch-Hirschfeld, L., Über die Agglutination von Staphylokokken durch Bestandteile des Säugetierplasmas. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 13. 1934. S. 331—333.)

Die Agglutinationsprobe in Säugetierplasma, dessen Gerinnung gehemmt

ist (1% Natriumzitrat), stellt ein einfaches Verfahren dar zur Ermittlung der Pathogenität bei Staphylokokken. Die Agglutination ist positiv bei pathogenen Stämmen. Im Serum und in reinen Fibrinogenlösungen fehlt die agglutinierende Wirkung des Plasmas, da sie bedingt ist durch den Gehalt an Prothrombin. Bisweilen zeigen pathogene Stämme allerdings schon in Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung deutliche Flockung, die aber durch die spezifische Wirkung des Plasmas beschleunigt und verstärkt wird. Bei dieser Affinität zwischen Prothrombin und parasitären Kokken handelt es sich offenbar um eine Anpassungserscheinung zwischen Parasit und Säugetierorganismus. Rodenkirchen (Duisburg).

Fink, H. und **Zenger, E.**, Über die Farbstoffe einer roten Hefe. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 51. 1934. S. 89—93.)

Aus einer rosafarbenen Hefe konnten zwei verschiedene Carotinoide in kristallisierter Form erhalten werden. Das eine in geringerer Menge vorhandene bildet organgegelbe Kristalle, ist neutral und hat die Eigenschaften eines Kohlenwasserstoffs. Es unterscheidet sich aber deutlich von den bisher bekannten Carotinoiden. Der in größerer Menge vorkommende Farbstoff bildet rotorange Kristalle, zeigt deutlich saure Eigenschaften, weicht aber im übrigen deutlich von den bekannten sauren Carotinoiden ab.

Heuß (Berlin).

Fink, H. und **Zenger, E.**, Zur Biochemie der Farbstoffe der roten Hefen. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 51. 1934. S. 129—130.)

An der rosafarbenen Hefe, aus der zwei Carotinoide isoliert wurden, prüften Verff. den Einfluß des Lichtes, der Temperatur und des Sauerstoffs auf das Wachstum und die Farbstoffbildung. Die Versuche über den Einfluß des Lichtes führten zu dem Ergebnis, daß sich bei Licht oder Dunkelheit weder das Wachstum der roten Hefe noch deren Farbstoffbildung in nennenswerter Weise unterscheidet. Was die Temperatur betrifft, so erwies sich eine solche von 20° C sowohl für die Entwicklung der Hefe wie für die Farbstoffbildung am geeignetsten. Die Versuche über den Einfluß der Atmosphäre wurden mit Sauerstoff, Stickstoff und Luft durchgeführt. Wachstum und Farbstoffbildung waren bei normalem Luftzutritt am intensivsten.

Heuß (Berlin).

Burgeth, I. A., Some factors influencing germination of spores of Phyllosticta solitaria. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 384—396.)

Das Temperaturminimum für die Keimung der Sporen von Phyllosticta solitaria lag etwas unter 5° C, das Maximum etwa bei 39° C und das Optimum bei 23° C. Das Licht hatte keinen nennenswerten Einfluß auf die Keimung. Die Sporenkeimung war in Apfelrindenabkochung und in Kartoffelstärke-Bouillon reichlicher als in dest. Wasser. Coons Lösung erhöhte die Keimung, während Leitungs- und Regenwasser, Apfelsaft und K. U.-Lösung hemmend wirkte. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Popig, Werner, Untersuchung der Handelsmilch einer mitteldeutschen Großstadt auf Keimgehalt und Haltbarkeit. Diss. Univ. Leipzig 1934. (Risse-Verlag, Dresden-A. 1.)

Im Handel aufgekaufte Milch (Vorzugsmilch, Flaschenmilch und offene Milch) wurde verschiedenen Erhitzungsverfahren unterworfen und sofort, sowie nach 24 stünd. Aufbewahrung bei Kühlraum- und Zimmertemperatur auf Keimgehalt nach der Plattenmethode (Fleischpepton-Agar), Haltbarkeit und Verhalten bei der Reduktase- und Gärprobe geprüft; mit der rohen Milch wurde des weiteren auch noch die Trommsdorffprobe, die Katalaseprobe und die mikroskopische Keimzählung durchgeführt. Im Vergleich zu einer ähnlichen Arbeit von Rodenkirchen (siehe Ref. in dieser Ztschr. Bd. 79, 1929, S. 137) bringt diese Arbeit keine neuen Gedanken, es sei denn, daß die Milchwirtschaft mit einem neuen Hochpasteurisierungsverfahren von 10 Min. bei 78° C überrascht wird! Es wäre interessant, vom Verf. zu erfahren, wo es in der Milchindustrie einen Apparat gibt, der in der Lage ist, die Milch 10 Min. lang bei 78° C zu halten!

Da wegen Durchführung der Versuche in Reagenzgläsern die Erhitzung nicht in einem allseitig geschlossenen Behälter erfolgte und demzufolge Antrocknung kleiner Milchtröpfchen im oberen Teil der Reagenzglas-Innenwand möglich war, mögen manche Keime der Hitzewirkung entgangen sein; denn nur so lassen sich manche der z. T. nicht ganz verständlichen Ergebnisse erklären. Unmittelbar nach Erhitzung wurde bei der Vorzugsmilch gefunden, daß die Dauerpasteurisierung nur 62,3%, die 10 Min. dauernde Erhitzung bei 78° C 90,11% und das Abkochen nicht mehr als 94,41% der Ausgangskeime abtötete! Bei der Flaschenmilch wurden 99,3 bzw. 99,5% und bei der Marktmilch 98,3 bzw. 99,3% Abtötung nach Dauerpasteurisierung bzw. 10 Min. dauerndem Erhitzen bei 78° C beobachtet. Die Vermutung des Verf.s, daß die geringe Abtötungsziffer bei der Vorzugsmilch durch die schützende Wirkung des Fettgehaltes verursacht sein könnte, dürfte abwegig sein. Andere Untersuchungen aus der Literatur weisen darauf hin, daß noch im Ruhestand befindliche Bakterien (wie es in Vorzugsmilch die Regel ist) gegen Hitzeeinwirkung nicht so empfindlich sind wie Bakterien, die sich bereits in der ansteigenden Wachstumskurve befinden (Flaschen- und Marktmilch). Solche große Unterschiede wie die vorliegenden sind allerdings bis jetzt noch nicht bekanntgeworden.

Bei Beobachtung der Keimvermehrung in den verschieden erhitzten Milcharten nach 24 Std. Aufbewahrung im Vergleich zur jeweils frischen Ausgangskeimzahl zeigte sich bei der Aufbewahrung im Zimmer, daß die dauerpasteurisierten Proben stets die geringste Vermehrung aufwiesen und daß die Flaschenmilch im Vergleich zur Marktmilch durchweg eine wesentlich stärkere Keimzunahme zu verzeichnen hatte. Was die Beziehung der Reduktionszeit zum Keimgehalt betrifft, so konnten die auch von anderen Autoren beobachteten Abweichungen bestätigt werden. Hinsichtlich des Ausfalles der Gärproben nach erfolgter Erhitzung zeigt die günstigste Wirkung die Dauerpasteurisierung, und zwar in folgender Reihenfolge: Vorzugsmilch, Flaschenmilch und Marktmilch. Die 78°-Erhitzung fiel nur bei der Flaschenmilch aus der Reihe (schlechtere Milchgärproben als beim Abkochen); diese Ausnahmen wurden noch augenfälliger nach erfolgter 24stünd. Aufbewahrung. Was die Beziehung zwischen Erhitzung und Haltbarkeit betrifft, so konnte Verf. beobachten, daß bei Aufbewahrung im Zimmer die verschieden hohen Erhitzungsgrade fast gar keine besondere Wirkung zeigten. Bei der Aufbewahrung im Eisschrank war die Haltbarkeit bei den erhitzten Proben erhöht, insbesondere bei der Marktmilch. Trotzdem war die Verwendbarkeit der Milchen für Trinkzwecke eine beschränkte, da sich bei Zimmertemperatur nach 2, im Eisschrank nach 3—4 Tagen schwache Peptonisierung einstellte, die dann einen bitteren, faden Geschmack und käsigen Geruch im Gefolge hatte. — Beim Vergleiche zwischen den Werten der mikroskopischen (Einzelkeimzählung) und denen der Plattenkeimzählung ergab die erstgenannte, wie zu erwarten war, höhere Werte als die Plattenmethode, und zwar bei der Vorzugsmilch den 3,4fachen, der Flaschenmilch den 1,85fachen und bei der Marktmilch den 2,56fachen Betrag.

Was die allgemeine Qualität der untersuchten Handelsproben bezüglich Keimgehalt betrifft, so ergaben sich Schwankungen von 97 000 bis 105 Millionen. Besonders bemerkenswert ist, daß die Vorzugsmilchproben keineswegs den örtlichen Vorschriften von höchstens 50 000 Keimen pro ccm entsprachen, ihr durchschnittlicher Keimgehalt war 627 000. Die Flaschen-

milch wies einen solchen von 5 Millionen, die gewöhnliche Marktmilch einen solchen von 18 Millionen auf. Im Vergleich zu den von Rodenkirchen im Jahre 1928 gefundenen Werten muß leider festgestellt werden, daß im Laufe der letzten 5 Jahre bezüglich der in Leipzig umgesetzten Handelsmilch eine wesentliche Besserung nicht eingetreten ist.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Baumann, J., Untersuchungen über die milchwirtschaftlich wichtigen Bakterien in den Faeces des Rindes. Diss. Techn. Hochschule Zürich. 1934.

Aufgabe vorliegender Arbeit war es, die Bedeutung und Auswirkung von Kuhkotinfektionen aufzuklären und zwar mit besonderer Berücksichtigung der hierdurch in die Milch gelangenden wichtigeren Bakterienarten. Ergebnisse: 1. Streptokokken. Die gefundenen Arten verteilten sich auf folgende Gruppen: 1. Str. bovis-Gruppe, insgesamt 49 Stämme, davon 43 Str. bovis und 6 Str. inulinaceus. 2. Str. lactis-Gruppe, insgesamt 21 Stämme, davon 17 Str. faecium, 3 Str. lactis und 1 Str. glycerinaceus. Bemerkenswert ist, daß in den über 50 untersuchten Kotproben der Str. lactis nur dreimal gefunden wurde und die übrigen für die Milchwirtschaft wichtigen Milchsäurestreptokokken (Str. cremoris, Str. thermophilus) überhaupt nicht. Diagnostisch ist wichtig, daß sich nach den vorliegenden Untersuchungen in Übereinstimmung mit den Ergebnissen Demeters keine Beziehung ergeben hat zwischen den übrigen Streptokokkendifferenzierungsverfahren und dem Ausfall der Lackmusmilchprobe, ja es zeigte sich sogar mit aller Deutlichkeit, daß selbst ein positiver Ausfall der Lackmusmilchproben keineswegs spezifisch ist für Str. lactis! Der Str. bovis ist als der vorherrschende, gemeine Kuhkotstreptokokkus aufzufassen. Die Mehrzahl dieser Stämme rief in Milch einen rein sauren Geruch und Geschmack hervor, einige wenige verursachten malzartigen oder brenzlichen Geschmack, der aber meist bald verlorenging. Vom käsereitechnischen Standpunkt aus war es interessant, daß von den Kuhkotstreptokokken nur zwei die Brenntemperatur von 55° C während 1 Std. nicht aushielten. Vergleichende Untersuchungen von Streptokokken aus Emmentaler Käse mit solchen aus Milch ergaben ein völliges Fehlen des Str. glycerinaceus in Milch. Dieser ist wohl als eine Standortmodifikation des Str. faecium aufzufassen. Anderseits erkennt Verf. die Berechtigung der Ansicht von Demeter (Gundel u. a., d. Ref.) an, daß der Fäkalstreptokokkus dem Str. lactis zuzurechnen ist; denn Str. faecium und Str. lactis hätten im Vergleich zu anderen Streptokokken mehr gleiche als ungleiche Eigenschaften aufzuweisen. 2. Betakokken konnten in typischer Form nicht aus Kuhkot erhalten werden. 3. Tetrakokken. Sie stehen entgegen dem Befunde Orla-Jensens in ihrer Häufigkeit den Milchsäurestreptokokken wesentlich nach. Von den 40 aus Kot isolierten Stämmen gehörten 30 zu Tetrac. liquefaciens, 4 zu Tetrac. mycodermatus und 6 zu Tetrac. casei. Eine Untersuchung darüber, inwieweit im Käse vorkommende Mikrokokken evtl. von der Kotinfektion der Milch herrühren, ergab, daß in den jungen Käsen die gleichen Arten wie im Kuhkot und in der Milch anzutreffen waren, daß sie jedoch schon in 1monatigen Käsen sehr stark zurückgingen und aus älteren Käsen nie mehr zu isolieren waren. Dafür waren Mikrokokken von der Art des Micr. candidus vorherrschend. 4. Milchsäurelang-

stäbchen. Trotz der verschiedenartigsten Anreicherungsmethoden gelang es niemals, im Kot ausgewachsener Rinder das Thermobacterium helveticum (B. casei ε) nachzuweisen, dagegen wohl in Kälberfaeces, solange die Kälber in der Hauptsache Milch erhielten. Von den gefundenen 40 Stämmen gehörten 8 zum Streptobact. plantarum, 1 zum Streptobact. casei (B. casei α), 21 zum Betabact. breve (B. casei γ) und 10 zum Betabact. longum (B. casei δ). Die Betabakterien gehören demnach infolge ihres regelmäßigen Auftretens zur endemischen Flora des Kuhkotes. Ein Teil davon war in der Lage, in Milch kräftig das Butteraroma (Diacetyl) zu bilden, auch ohne Mischkultur mit Str. lactis. 5. Die Mikrobakterien hatten zahlenmäßig keinen großen Anteil an der Gesamtflora des Kuhkotes. Gefunden wurden nur zweierlei Arten: Mbm. lacticum und Mbm. flavum; diese konnten auch in der Milch und in dem Käse nachgewiesen werden. 6. Propionsäurebakterien. Ihr Vorkommen ist im Kuh- wie im Kälberkot ein mehr beiläufiges. Gefunden wurde nur eine Art: Bact. acidi propionici b von Freudenreich. 7. In der Milchwirtschaft unerwünschte Organismen. Zu diesen gehören in erster Linie die Vertreter der Coli aerogenes-Gruppe. Bact. aerogenes wurde überhaupt nicht gefunden, Bact. coli wurde dagegen als vorherrschender Organismus festgestellt und zwar bis zu einem Alter der Rinder von 2½ Jahren. Später sinkt der Colititer auf den Titer der Milchsäure-Streptokokken herab, zuweilen sogar noch etwas darunter. Was das Vorkommen vom Buttersäurebazillus (Bact. amylobacter) betrifft, so konnten die früheren Ergebnisse der Schweizer Schule bestätigt werden. Bei der Verfütterung von Körnermaissilage wurden im Kot niedrigere Amylobacterzahlen erhalten als bei gewöhnlichem Silofutter (wie z. B. Klee-Grasgemisch): 28 000 pro g Kot an Stelle von 300 000 bis 900 000. Der mittlere Gehalt an Eiweiß zersetzenden Anaerobiern (Bac. putrificus) betrug 100—1000 pro g Kuhkot.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Grimmer, W. und Fink, Erik, Beiträge zur Biochemie der Mikroorganismen. VI. Zur Kenntnis der Acidoproteolyten. (Milchwirtschaftl. Forschgn. 16. Bd. 1934. S. 277—288.)

Als Beitrag zur Klärung der Frage, welche Rolle den Mikrokokken bei der Käsereifung zukommt, prüften Verff. den Abbau von Casein (Hammarsten) durch einen aus Tilsiter Käse isolierten Mikrokokkus. Es handelt sich um einen Stamm der von Grenz beschriebenen großen proteolytisch wirksamen Mikrokokken.

Bei Betrachtung der Versuchsergebnisse kamen Verff. zu dem Schluß, daß der caseolytische Mikrokokkus die Fähigkeit besitzt, Casein sowohl allein als auch bei Gegenwart von Zucker abzubauen. Bei einer kürzeren Einwirkungsdauer zeigt sich, daß die Fähigkeit bei Anwesenheit von Zucker stark beeinträchtigt ist, während sie sich bei einer Bebrütungsdauer von 6 Monaten wieder auszugleichen sucht.

Als Abbauprodukte konnten isoliert werden 1. aus zuckerfreiem Nährboden: Valeriansäure, Buttersäure, Propionsäure, vermutlich etwas Essigsäure, Ammoniak, Histidin, Arginin, Lysin, Tyrosin, Leucin, Isoleucin, Valin; 2. aus zuckerhaltigem (Laktose) Nährboden: Buttersäure, Propionsäure, Ammoniak, Histidin, Lysin, Isoleucin.

In beiden Fällen konnte die Anwesenheit von Indol und Skatol nachgewiesen werden, ohne daß jedoch eine eindeutige Identifizierung gelang.
H. Mossel (Weihenstephan).

Hüttig, L., Die Abhängigkeit der Käseblähung von der „Disposition" der Anlieferungsmilch. (Hildesh. M.-Ztg. Jahrg. 48. 1934. S. 295—297, 1 Tab., 2 Abb.)

Verf. ermittelt die Disposition der Milch zur Käseblähung mittels der Milchagar-Schüttelkultur: In einem Reagenzglas werden einige Kubikzentimeter flüssigen und auf 55° C abgekühlten Fleisch-Pepton-Agars mit der gleichen Menge der zu untersuchenden Milch innig vermischt und nach dem Erstarren 24 Std. bei 25—30° C bebrütet. Gasbildung äußert sich durch Zerreißen und Auftreiben des Agars. Die mit dieser Methode erhaltenen Ergebnisse stimmen mit den tatsächlichen praktischen Befunden besser überein als die der Gär- und Labgärprobe.

Bei der Prüfung von 2 Lieferantenmilchen auf „Disposition" zur Käseblähung stellte Verf. fest, daß nach immer gleicher Beimpfung mit Bact. aerogenes in Perioden von 8—10 Tagen plötzlich stark einsetzende Blähung der Milchagar-Schüttelkultur eintrat. In den folgenden Tagen ging die Blähung langsam zurück und blieb dann ganz aus. Kontrollproben mit steriler und 10 Min. auf 63° C erhitzter Milch zeigten an allen Tagen gleich starke Blähung. Durch systematische Versuche konnte als Ursache dieser Disposition der Rohmilch für die Blähung die Gegenwart größerer Mengen wachsender Milchsäurebakterien festgestellt werden. Durch diese wurde jedoch nicht etwa das Wachstumsvermögen, sondern nur das Gasbildungsvermögen der Aerogenesbakterien gehemmt. Die nicht geblähten Proben waren sogar reicher an Bact. aerogenes als die geblähten, sie starben dort auch nicht so rasch ab, als wenn sie Blähung verursacht hatten. Die Azidität hatte keinen Einfluß auf diese Erscheinung. Die Disposition der Rohmilch zur Blähung steht demnach in gewisser Beziehung zur Gesamtkeimzahl.
H. Mossel (Weihenstephan).

Whitehead, H. R. und Riddet, W., Slow development of acidity in cheese manufacture. Investigation of a typical case of „non-acid" milk. (New Zealand Journ. of Agric. Vol. 46. 1933. p. 225—229.)

Die Verff. isolierten ein Bakterium aus einer typischen sog. „Nichtsauer"-Milch. Dieses ruft dasselbe Phänomen hervor, wenn es in normale Milch eingeimpft wird. Es handelt sich um einen Streptokokkus, der morphologisch den Milchsäurestreptokokken sehr ähnlich ist. Verff. zeigten, daß das Phänomen von einigen Stoffwechselprodukten verursacht wird. Diese Produkte waren nicht durch ein 30 Min. langes Erwärmen auf 100° C zu zerstören. Die einzigste Möglichkeit dieses Phänomen zu vermeiden war Kühlung der Milch bis zu einer Temperatur, bei welcher die Bakterien sich nicht vermehren konnten. Woher die Streptokokken stammen, konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden.
E. Munch-Petersen (Sydney).

Ritter, W., Die Herkunft von Acetoin und Diacetyl in Magenlab und anderen Käserei-Rohkulturen. (Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz. 1934. S. 218—223.)

Zur Prüfung auf die Häufigkeit des Vorkommens von Acetoin und Diacetyl wurden zunächst 65 verschiedene Magenlabkulturen, wie sie bei

der Emmentalerkäserei gebräuchlich sind, auf Anwesenheit von diesen Stoffen untersucht. Es ergab sich, daß sämtliche Magenlabkulturen sehr stark positiv reagierten und die Fettsirtenkäsereikulturen und Fettsirtenkulturen zu einem großen Teil, während bei den gewöhnlichen Käsereikulturen mit einer einzigen Ausnahme ein negatives Ergebnis erhalten wurde. Im weiteren wurde geprüft, ob das Vorhandensein von Acetoin und Diacetyl auf Bakterientätigkeit zurückzuführen ist. Es zeigte sich hierbei, daß die Bildung von Acetoin und Diacetyl im Magenlab rein durch Bakterienwirkung erklärt werden kann. Als in diesen Kulturen zur Bildung dieser Aromastoffe befähigte Organismen wurden, abgesehen von den Essigsäurebakterien, folgende erkannt:

Thermophile Streptokokken, Betakokken und Betabakterien. Die beiden letzteren bilden hierbei die angegebenen Stoffe nur bei Gegenwart von Zitronensäure, die erstgenannten auch in Abwesenheit derselben. Mycoderma casei bildete kein Acetoin und Diacetyl, ebensowenig die untersuchten Stämme von Propionsäurebakterien.

Daß im Magenlab oft andere Verhältnisse herrschen als in den übrigen milchwirtschaftlichen Kulturen, ist anzunehmen; denn diese Aromastoffe wurden im Magenlab häufiger und regelmäßiger gebildet als in den anderen Kulturen. Ob es sich hierbei um Eiweißstoffe oder um andere Substanzen handelt, wurde nicht untersucht. Immerhin trat auf Schottenkulturen, in denen vor der Sterilisation Labmägen aufgekocht worden waren, bedeutend üppigeres Bakterienwachstum auf als auf gewöhnlicher Schotte.

K. J. Demeter (Weihenstephan).

Illies, R., Der heutige Stand der Hefeverwertung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 51. 1934. S. 25—28.)

Die primitivste Form der fabrikatorischen Hefeverwertung für die Brauerei ist in der Herstellung gewöhnlicher Trockenhefe gegeben. Deren Zusammensetzung besteht aus 5—7% Wasser, 52—55% Eiweiß, etwa 30% stickstofffreien Extraktstoffen und 7—8% Asche. Durch Ultraviolettbestrahlung kann das Ergosterin des Hefefettes in das wertvolle Vitamin B übergeführt werden. Zur Herstellung von Nährhefe wird die Trockenhefe gewaschen, gereinigt und entbittert, mit Hilfe von Vakuumtrocknern kann man unter so milden Bedingungen trocknen, daß ein großer Teil der Zellen am Leben bleibt, gärungs- und vermehrungsfähig ist. Zur Herstellung von Hefeextrakten, die dem Liebigschen Fleischextrakt ähneln, wird der Eiweißgehalt der Hefe abgebaut, das Eiweiß liegt dann in Form von niedrig molekularen Abbauprodukten wie Albumosen, Peptonen und besonders Aminosäuren vor. Ein Vorzug des Hefeextraktes gegenüber dem Fleischextrakt besteht in seinem Gehalt an Vitamin B. Die Rückstände bei der Herstellung von Hefeextrakt bestehen in den ausgelaugten Zellhäuten, die immer noch reichlich Eiweiß und auch das gesamte Fett enthalten. Durch Trocknung erhält man daraus Futterhefe; auch kann man aus dem Hefefett Ergosterin gewinnen, das Ausgangsmaterial zur Darstellung des künstlichen Vitamins D. Für die Heilkunde kommen Hefezubereitungen für die Gebiete der Dermatologie, Gynäkologie, Anämie, Diabetes usw. in Frage.

Heuß (Berlin).

Lüers, H. und Leiss, F., Flüchtige Bukettstoffe der Würzegärung. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 373—377 und 381—384.)

Zur Erfassung der bei der Gärung von Bierwürze in sehr geringen

Konzentrationen sich bildenden Nebenprodukte mußten die Gärgase von Tausenden von Hektolitern Bier untersucht werden. Dies war in einer nach dem Nathan verfahren arbeitenden Brauerei möglich, in welcher die Kohlensäure mit Aktivkohle gereinigt wird. Die flüchtigen Nebenprodukte, die noch zum Teil mit der Kohlensäure als Trägergas entweichen, wurden aus der Kohle durch Wasserdampfdestillation gewonnen. Die Prüfung der gesuchten Stoffe konnte nur qualitativ erfolgen, doch wurde jeweils wenigstens eine Schätzung ihren gegenseitigen Mengenverhältnissen nach vorgenommen.

Von Äthylalkohol wurden aus 1,5 hl Wasserdampfkondensat annähernd 8 l, von Gärungsamylalkohol 20 ccm isoliert. Isobutyl-, n-Propyl-, Isopropylalkohol und höhere Alkohole waren nur in Spuren nachweisbar. Von den vorhandenen Säuren stand die Essigsäure mengenmäßig an erster Stelle, außer ihr fand man Propion-, Butter-, Capron- und schweflige Säure. Von Estern fanden sich Essigsäureäthylester, Amylazetat und Capronsäureamylester, von Aldehyden Azetaldehyd und Furfurol. Von Schwefelverbindungen tritt Schwefelwasserstoff neben Amylalkohol als mengenmäßig häufigstes Nebenprodukt in den Gärgasen auf, von organischen Schwefelverbindungen wurde die Anwesenheit von Äthylmerkaptan durch eine Farbreaktion wahrscheinlich gemacht. Gelegentlich dürften auch Ammoniak und Trimethylamin in den Gärgasen auftreten. Nicht gefunden wurden folgende Körper: Methylalkohol, Formaldehyd, Ameisensäure, Azeton und 2, 3-Butylenglykol.

Heuß (Berlin).

Kämpf, H., Beitrag zur biologischen Säuerung von Maischen und Würzen mit Proteolytmalz. (Allgem. Brauer- u. Hopfenztg. Bd. 74. 1934. S. 297—299.)

Proteolytmalz ist ein mit Milchsäure konserviertes Malz, durch dessen Mitverwendung in einfacherer Weise als mit Hilfe der Säuerung durch Bacillus Delbrücki die Azidität von Maischen und Würzen erhöht und die biologische Haltbarkeit des Bieres verbessert werden kann.

Heuß (Berlin).

Fink, H., Studien über Brühhaufenmalze. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 50. 1933. S. 397—402, 405—410 und 413—414.)

Das sog. Brüh- oder Brennhaufenmalz, dessen Bereitung schon den alten Brauern bekannt war, entsteht dadurch, daß das fertige Grünmalz vor dem Ziehen auf die Darre in Haufen zusammengesetzt und längere Zeit sich selbst überlassen wird. Diese Arbeitsweise kommt vor allem für die Herstellung von dunklem Malz in Frage, weil als Folge der bei dem Zusammensetzen der Haufen entstehenden Temperaturerhöhung unter anderem auch die Bildung von Farb- und Aromastoffen gefördert wird. Die in Großversuchen hergestellten Brühmalze konnten demzufolge ohne Farbmalzzusatz verbraut werden, die daraus bereiteten Biere befriedigten zunächst sehr, zeigten aber bald gewisse Alterungserscheinungen, die sich auf den Geschmack ungünstig auswirkten und waren vor allem infolge des vorgeschrittenen Eiweißabbaues äußerst empfindlich gegen Sarzina. In geringeren Anteilen mit dunklem normalem Malz verwendet, beeinflußten sie die Haltbarkeit des Bieres nicht. Heuß (Berlin).

Stauber, Das Wesen der Kaltsterilisation. (Allgem. Brauer- u. Hopfenztg. Bd. 74. 1934. S. 11—14.)

Verf. gibt eine Entwicklungsgeschichte der entkeimenden oder „E. K.-

Schichten" und der praktischen Ausführungen der Abfüll- und Filtrationsanlagen, die nach diesem Prinzip arbeiten und das Bier oder andere Getränke haltbar machen, was bisher nur mit Hilfe der Pasteurisation erreicht werden konnte. Heuß (Berlin).

Wehrmann, F., Winke zur zweckmäßigen Anwendung des Elmocidverfahrens und zur Kontrolle der Elmocidlösungen. (Tagesztg. f. Brauerei. Bd. 31. 1933. S. 746.)

Die gute Wirkung des Elmocids wird erreicht durch die in die Praxis umgesetzte Erkenntnis, daß die Desinfektionskraft an sich unwirksamer Konzentrationen von Säuren und Alkalien durch Zusatz von Neutralsalzen in geringen Konzentrationen sehr gesteigert wird. Eine 1proz. Lösung von „Elmocidalkalisch" entspricht der Alkalität einer n/10-Natronlauge und 0,4% NaOH mit einem Gehalt von 0,58% Kochsalz, letzteres ebenfalls n/10. Die Kontrolle dieser Lösung ist deshalb sehr einfach: man titriert 10 ccm mit n/10-Salzsäure gegen Phenolphtalein oder Methylorange, die frisch bereitete Lösung verbraucht 10 ccm der Säure, verwendete Lösungen werden durch unvermeidliche Verdünnungen schwächer, verbrauchen weniger Salzsäure bei der Titration und können nach dem Titrationswert zu mehrmaliger Verwendung aufgefrischt werden, da sich die maßgebende Größe für die Wirksamkeit, das ph, durch geringe Verdünnungen noch kaum ändert. „Elmocidsauer" ist in 1proz. Lösung eine n/10-Salpetersäure mit einem ebensolchen Gehalt an Kaliumnitrat, und kann mit n/10-Lauge titriert werden. Der ph liegt bei Elmocidalkalisch etwa bei 13, bei Elmocidsauer bei 1,07. Elmocidalkalisch ist auch für die Flaschenreinigung in bürstenlosen Maschinen brauchbar. Heuß (Berlin).

Weber, Er., Ein neues praktisches Gerät zur Prüfung von Druckluft auf ihre biologische Beschaffenheit. (Tagesztg. f. Brauerei. Bd. 31. 1933. S. 660—661.)

Der von der Brautechnik G. m. b. H. in München konstruierte Apparat besteht aus einem Aluminiumtrichter, der oben mit einem Hahn mit Schlauchansatz versehen ist. Den Verschluß dieses Trichters, der mit Alkohol leicht sterilisiert werden kann, bildet ein Deckel, in den eine mit Hefewasseragar beschickte Petrischale eingesetzt werden kann, um sie 5 Minuten lang dem Luftstrom auszusetzen. Die Luftgeschwindigkeit wird dabei gleichzeitig hinter dem Trichter mit einem Anemometer gemessen. Aus der Luftgeschwindigkeit, der Grundfläche der Petrischale und der Expositionszeit ergibt sich die Menge der Luft, die zur Untersuchung gelangte.
Heuß (Berlin).

Schwalbe, C. G., Futterstoff aus Holz. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 46. 1933. S. 707—711.)

Die Bestrebungen, Holz als Futterstoff zu benutzen, sind durch Einführung eines biologischen Verfahrens in ein neues Stadium getreten. Durch alkalische Hydrolyse in Verbindung mit Quellung durch Quellmittel und mechanischer Bearbeitung wurde bisher beim Wiederkäuer eine Verdaulichkeit der Rohfaser von etwa 60% erreicht. Eine Steigerung der Verdaulichkeit auf etwa 63% wurde erreicht durch Quellung mit Kohlenhydraten und nachfolgender Milchsäuregärung. Eine Verdaulichkeit der Rohfaser bis zu 77% wird durch Quellung bzw. Mazeration mit Milchsäure allein erzielt.

Die Verdaulichkeit der stickstofffreien Extraktivstoffe kann bei Milchsäuregärung oder Milchsäuremazeration bis auf 100% ansteigen.

Heuß (Berlin).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Jensen, H. L., Corynebacteria as an important group of soil microorganisms. (Proc. Linnean Soc. of N. S. Wales. Vol. 58. 1933. p. 181—185.

Bakterien, die dieselben Eigenschaften wie die Gattung Corynebacterium haben, wurden als eine zahlenmäßig wichtige Gruppe in australischen Böden gefunden. Sie machten 8—65% sämtlicher Bakterien-Kolonien auf den Dextrose-Agarplatten aus (Dextrose 2 g; Kasein, in 10 cc 0.1/n NaOH gelöst, 0,2 g; K_2HPO_4 0,5 g; $MgSO_4$ 0,2 g; Agar 15,0 g; Wasser 1,000 cc; p_H 6,5—6,6). Sie sind wahrscheinlich an der Zerstörung der organischen Substanz des Bodens aktiv beteiligt, speziell während der späteren Stadien dieser Prozesse. Möglicherweise sind sie mit gewissen Organismen, die als Rhizobia beschrieben worden sind, identisch.

E. Munch-Petersen (Sydney).

Conrad, J. P., The relation of colloidal dispersion in soils to chemical changes induced by biological transformations of organic materials. (Soil Science. Vol. 37. 1934. p. 179—201.

Der Zusatz reichlicher Mengen von Harnstoff zu einem sandigen Lehm führte infolge der Bildung von Ammonkarbonat zu einem Alkalitätsanstieg und damit zur Erhöhung des Dispersitätsgrades. Im schweren Lehmboden wurde das Ammonkarbonat rasch nitrifiziert. Damit war eine Zunahme der H-Ionenkonzentration und eine Abnahme des Dispersitätsgrades verbunden. Im Zusammenhang hiermit nahm in der Bodenflüssigkeit die spez. Leitfähigkeit zu, und der Gehalt an Kationen, besonders Ca und Mg, erhöhte sich. Zugabe von Zucker verminderte in beiden Böden die Leitfähigkeit sowie den Gehalt an Kationen und Nitrationen und führte im Zusammenhang damit zu einem Anstieg der p_H-Werte und damit des Dispersitätsgrades. Die Ursache hierfür war in der Festlegung des Nitrat-N durch die Bodenorganismen zu suchen. Später wurde die gebildete Mikrobensubstanz ammonifiziert und nitrifiziert, womit wiederum eine Zunahme der Leitfähigkeit, des Kationengehaltes usw. verbunden war. Verf. wollte mit seinen Versuchen den Beweis erbringen, daß die günstige Wirkung mancher organischer Stoffe auf die physikalisch-chemische Beschaffenheit des Bodens und damit auf das Pflanzenwachstum nicht direkter Natur, nicht eine statische Wirkung der organischen Substanz ist, sondern indirekt erst durch Umwandlungen mikrobiologischer Natur hervorgerufen wird, also dynamisch aufzufassen ist.

Engel (Berlin).

Rountree, Phyllis M., The bacteriological Oxidation of Sulphur in an Australian Soil. (The Austral. Journ. Exper. Biol. and Med. Sci. Vol. 11. 1933. p. 209—218.)

Die Oxydation elementaren Schwefels in einem australischen Boden, Renmark clay loam genannt, wurde studiert. Die Wirkungen von verschiedener Bodenfeuchtigkeit und -temperatur auf das Verhältnis der Schwefeloxydation wurden bestimmt. Das Feuchtigkeitsoptimum lag zwischen 60—90% Sättigung und das Temperaturoptimum zwischen 16—35° C.

Eine Spezies der Thiobazillusgattung der Bodenbakterien wurde aus Boden, der mit Schwefel behandelt war, isoliert. Ihr Wachstum in sterilisiertem Boden wurde studiert. Die Wasserstoffionenkonzentration des Bodens wurde durch die Wirksamkeit der Bakterien von p_H 8,4 bis p_H 4,5 in 12 Tagen verändert; die große Menge Säure verhinderte dann die Weiterentwicklung. Die wesentlichen morphologischen und kulturellen Eigenschaften des Organismus sind beschrieben, und seine systematische Stellung wird besprochen.
E. Munch-Petersen (Sydney).

Kamerman, P., Note on the effect of the type of glass in studying the microflora of the soil by the cholodny technique. (Bodenkundl. Forschungen. Bd. 4. 1934. S. 73.)

Wurden Objektträger aus Glas verschiedener Herkunft nach dem bekannten Cholodny-Verfahren in den Boden eingegraben, entwickelten sich auf diesen sehr verschiedene Mengen von Mikroorganismen. Auf der grünlich gefärbten Glassorte war die Zahl der Pilze und Aktinomyceten sowie auch der Bakterien wesentlich größer als auf der farblosen Sorte. Die Unterschiede waren von der Bodenreaktion unabhängig, so daß die vielleicht günstigere Reaktion der Wasserhaut auf dem farbigen Glase zur Erklärung nicht herhalten konnte. Leider wußte Verf. über die Herkunft der Glassorten nichts auszusagen. Nach Ansicht des Ref. sind Schwermetallwirkungen nicht ganz ausgeschlossen, da die Farbe des Glases von Schwermetall-Beimengungen hervorgerufen wird. Engel (Berlin).

Barthel, G., Der Einfluß einer feldmäßigen K_2O- und P_2O_5-Düngung auf die Mikroorganismentätigkeit im Boden und die Beziehungen dieser zu den Felderträgen. (Ztschr. f. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenkunde. Teil B. Bd. 13. 1934. S. 102.)

Die Versuche brachten keinen Anhalt dafür, daß eine feldmäßige K_2O- und P_2O_5-Düngung die Lebenstätigkeit der Bodenmikroflora irgendwie beeinflußt. Obgleich das betreffende Feld schon seit 4 Jahren benutzt wurde, war die CO_2-Produktion der Bodenproben von den Mangelparzellen im Durchschnitt eher besser als die des gedüngten Bodens. Auch N-Bindungs- wie auch Zellulosezersetzungsvermögen ließen keine Unterschiede erkennen. Ganz beträchtlich war dagegen die Abhängigkeit der Mikroorganismentätigkeit von der Bodenreaktion und dem Humusgehalt, Faktoren, die auf dem betreffenden Felde von Parzelle zu Parzelle starke Unterschiede zeigten. Die Fruchtbarkeit des Bodens war im Gegensatz zur Mikroorganismentätigkeit auf den Mangelparzellen deutlich zurückgegangen. Engel (Berlin).

Scheffer, E., Maßnahmen zur Erhaltung und Förderung der Bodenfruchtbarkeit. (Kühn-Archiv. Bd. 38. 1933. S. 96—100.)

Verf. kennzeichnet den modernen Standpunkt der Agrikulturchemie etwa dahin, daß Liebig nur den Ersatz der Nährstoffe verlangt habe, demgegenüber heute aber die gleichberechtigte Forderung erhoben werde, auch die anderen die Bodenfruchtbarkeit bedingenden Bodenkräfte durch Zufuhr geeigneter Substanzen zu ergänzen. Die Lehre Liebigs von der Statik der Nährstoffe wird damit auf alle physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften ausgedehnt. Verf. setzt sich für die Forderung

der Schaffung neuer Kunstdüngerformen ein, die dem Vorbild des Stallmistes entsprechend gleichzeitig Boden- und Pflanzendünger sind.

Braun (Berlin-Dahlem).

Sandhoff, H., Chemisch-physikalische Untersuchungen an Ligninen und deren Bedeutung als Boden- und Pflanzendünger. (Kühn-Archiv. Bd. 38. 1933. 101—140.)

Verf. gibt einleitend einen Überblick über die Bedeutung der Absorptionskomplexe im Boden und ihren Aufbau. Die Grundsubstanz der organischen Komplexe besteht nach den bisherigen Forschungen aus Lignin. Wie der Permutit der künstliche anorganische Absorptionskomplex ist, ohne daß er wegen der hohen Herstellungskosten praktisch anwendbar ist, so kann vielleicht das Lignin dem Aufbau künstlicher organischer Absorptionskomplexe dienen, in denen es mit den wichtigsten Pflanzennährstoffen und anderen Basen Verbindungen eingeht, die in erster Linie der Erhaltung der Bodenfruchtbarkeit dienen, die keine schädlichen Ballaststoffe enthalten und möglichst schwer durch die Mikroorganismen des Bodens zersetzbar sind. Zur Klärung dieser Frage hat Verf. umfangreiche Untersuchungen durchgeführt. Zunächst werden einige Angaben über Vorkommen und Gewinnung des Lignins gemacht. Verschiedene Ligninpräparate sind dann unter den verschiedensten Gesichtspunkten untersucht worden und zwar auf Absorption von ein- und zweiwertigen Kationen, von Ammoniak, von Anionen und von Eiweiß. Ferner wurden Leitfähigkeitsmessungen durchgeführt, die Wasseraufnahme bestimmt und die Wirkung der Ligninverbindungen auf das Pflanzenwachstum sowie die Zersetzbarkeit der Lignine geprüft.

Braun (Berlin-Dahlem).

Rasumow, A., Neue Methoden und Wege für die qualitative und quantitative Untersuchung der Mikroflora des Wassers. (Microbiology. Vol. 2. 1933. Nr. 4. p. 346—351.) [Russisch.]

Filtrieren des Wassers durch Nitrozellulosemembrane ermöglicht nicht nur die qualitative Bestimmung der Mikroorganismen eines Seewassers, sondern auch die qualitative Charakteristik der Mikroflora auf Grund ihrer morphologischen Eigenschaften. Durch Züchtung der auf den Nitrozellulosemembranen konzentrierten Bakterien auf elektiven Nährböden lassen sich vollwertigere Ergebnisse gewinnen, als nach der Methode von Koch. Die Methode ist zur Bestimmung von B. coli im Wasser anwendbar und gibt schnelle Ergebnisse.

A. Imšenecki (Leningrad).

Tauson, W., Wesselow, I., Aleschina, W. und **Goldin, M.,** Über die anaerobe Mikroflora des vulkanischen Schlammes. (Microbiology. Vol. 2. Nr. 4. p. 334—345.) [Russisch.]

Zur Lösung von Fragen, die mit der Möglichkeit biogener Entstehung des vulkanischen Schlammes in Verbindung stehen, wurden 50 Schlammproben aus dem Taman-Kertsch-Gebiet in bezug auf Bakterien, die anaerobe Zersetzung der Zellulose in Gegenwart oder Abwesenheit von Sulfaten hervorrufen, ferner auf Sulfate reduzierende Bakterien untersucht. Eine Anzahl Proben wurden auch auf Vorhandensein von Fäulnisbakterien, denitrifizierenden, Fett zersetzenden und Phosphate reduzierenden anaeroben Bakterien geprüft. Da das Wasser einiger Schlammvulkane Jod und Bor enthält, wurde noch der Einfluß von KJ und $Na_2B_4O_7$ auf desulfurierende Bakterien untersucht. Es ergab sich, daß diese Verbindungen bei der im Wasser

vorhandenen Konzentration keinen Einfluß auf die Wirksamkeit der erwähnten Bakterien ausüben. Es wurde erwiesen, daß Vulkanschlamm, der nicht unter Einwirkung von O_2 steht, stets anaerobe desulfurierende Bakterien (Microspira desulfuricans, M. aestuaria), Fäulnisbakterien, und Zellulose zersetzende denitrifizierende Bakterien enthält, die folglich organische Stoffe unter Bildung von CH_4, CO_2 und H_2S zersetzen können. Dem Ausbruch des Schlammvulkans kann starke Gasanhäufung zugrunde liegen. Auch an der Naphthabildung und den nachfolgenden Veränderungen des Naphthas könnten anaerobe Bakterien beteiligt sein. Einfluß des Luftsauerstoffes auf den Schlamm führt zur Vernichtung der desulfurierenden und der Zellulose zersetzenden Bakterien. Temperaturerhöhung des Schlammes und des Wassers in der Tiefe ließ sich nicht beobachten und Vibrio thermodesulfuricans wurde nur in einem Fall festgestellt. „Feurige" Ausbrüche sind nicht von Erhitzung großer Schlammmassen begleitet und vollständige Sterilisation des Schlammes tritt nicht ein.

A. Imšenecki (Leningrad).

Mikrobiologie von Holz usw.

Freise, F. W., Beobachtungen an im Urwalde vermodernden Holze. (Brennstoffchemie. Bd. 14. 1933. S. 427—430.)

Verf. studierte die Zersetzung des Holzes von Tecoma curialis Fr. All. im brasilianischen Urwalde, und zwar: 1. an freier Luft und 2. unter Bedeckung mit einer 60 cm starken Erdschicht. Parallel hierzu wurden Laboratoriumsuntersuchungen ausgeführt. — Es wurde gefunden: zunächst wird die Zellulose angegriffen und quantitativ zersetzt; erst nach Abschluß dieses Vorganges beginnt der Abbau von Lignin, der aerob verläuft und u. a. die Bildung von Milchsäure zur Folge hat. Die optimale Temperatur ist 30—35°; die Zersetzung schreitet von der Holzachse nach außen fort, so daß die äußere Gestalt des Holzkörpers noch sehr lange erhalten bleibt. Die — als Teilerscheinung am meisten interessierende — Bildung von Milchsäure erfolgt am ehesten bei der Vergärung von Wurzelholz, während sie auf Stamm- oder Astholz nur bei Anwesenheit von Fadenpilzen, wie Merulius lacrymans, schnell vor sich geht. Als sicher an der Erzeugung von Milchsäure beteiligt fand Verf. B. thermophilus, B. mycoides, Pediococcus lactis acidi und B. ferrogineus.

Limbach (Leipzig).

Fischer, F., Lieske, R. und Winzer, K., Neue Untersuchungen über die biologische Entgiftung von Leuchtgas und über die Gewinnung von technisch verwertbarem Leuchtgas aus Wassergas. I. II. (Brennstoffchemie. Bd. 14. 1933. S. 301—306, 328—333.)

In Fortsetzung früherer Untersuchungen über den gleichen Gegenstand fanden Verff., daß für Kohlenoxyd-Wasserstoffgemische wesentlich längere Zeit zur biologischen Aufspaltung in CH_4 und H_2 benötigt wurde, als für Gemenge aus CO_2 und H_2. Verminderte man den Wassergehalt des als Bakteriennährboden benutzten Faulschlammes auf etwa 50%, so steigerte sich dadurch die Reaktionsgeschwindigkeit beträchtlich: Umsetzungen, die vordem 3 Wochen dauerten, ließen sich nunmehr in 6 Std. abwickeln. Druckerhöhung des Gasgemisches ergab keine Beschleunigung der Umsetzung; ein Druck von 50 Atm. ließ diese indessen zum Stillstand kommen. Druck-

verminderung hatte keine Verlangsamung der Reaktion zur Folge. Die Anwesenheit von schweren Kohlenwasserstoffen (Äthylen, Benzol) führte zum Erlöschen der Reaktion. Bei strömendem Gas erfolgt die Umsetzung von Kohlensäure-Wasserstoff-Gemischen um so schneller, je verdünnter das reaktionsfähige Gas ist. — Mittels eines eingehend beschriebenen, kombinierten katalytischen und biologischen Entgiftungsverfahrens kann jedes technisch anfallende CO_2-H_2-Gemisch in ein als Leuchtgas verwendbares Gasgemisch umgewandelt werden, und zwar bei wesentlich herabgesetztem Faulschlammbedarf (1 cbm Kokereigas benötigt nur noch $^1/_{400}$ cbm Faulschlamm). Die angewandten Reaktionskörper sind giftfest; die kostspielige Beseitigung von Schwefelverbindungen kommt dadurch in Wegfall.

Limbach (Leipzig).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Young, P. A., Fungi and bacteria as indicators of the effects of petroleum oils on apple leaves. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 266—275, 2 figs.)

Verf. sucht die Schädlichkeit von Ölen auf Apfelblätter dadurch zu ermitteln, daß er die Öle auf Pilze einwirken läßt. Nur die Öle, die das Wachstum der Pilze nicht beeinträchtigen, sind für Apfelblätter ungefährlich. Von den untersuchten Pilzen erwies sich für die Versuche Rhizopus nigricans als am besten geeignet.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Jochems, S. C. J., Verslag van het Deli-Proefstation over het jaar 1933. [Bericht der Deli-Versuchsanstalt über 1933.] (Mededeel, v. h. Deli-Proefstation. 2. Serie. Nr. 89. 51 S.)

Aus dem Gesamtbericht interessiert nur derjenige der Botanischen Abteilung, worin eine Aufzählung der verschiedenen Pflanzenkrankheiten gegeben wird, welche im Jahre 1933 die Kulturen der bei dem Deli-Pflanzerverein angeschlossenen Tabakpflanzungen bedrohten sowie der gegen dieselben angewandten Maßnahmen.

van Beymathoe Kingma (Baarn).

Blodgett, F. M., and Mader, E. O., A method of recording the distribution of copper dusts or sprays on leaves. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 418—422, 1 fig.)

Verff. beschreiben eine Methode zur Feststellung des Belages von kupferhaltigen Spritz- oder Stäubemitteln auf Blättern. Zum Nachweis werden die Blätter auf Papier gelegt, das mit einer 2 proz. Kaliumferrocyanidlösung, die mit 5 ccm Essigsäure oder 2 ccm Salpetersäure auf 100 ccm angesäuert wird, getränkt wird. Mit demselben Papier können eisenhaltige Mittel nachgewiesen werden. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Cheal, W. F., Apple scab spraying experiments in the Wisbeck area: The times of application II. (Journ. of the Ministry of Agric. Vol. 40. 1933. p. 805—808.)

Die Versuche des Verf.s im Jahre 1933 zeigten, daß bei trockener Witterung während des „green flower"- und des „pink bud"-Stadiums durch eine einmalige Spritzung mit Schwefelkalkbrühe 1 : 30 gesunde Früchte erzielt werden können. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Harris, M. R., Phytophthora disease of snapdragons. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 412—417, 1 fig.)

Verf. berichtet über eine bisher noch nicht beschriebene Welkekrankheit von Löwenmaul. Die beobachteten Sorten Cheviot Maid, Jenny Schneider und Roman Gold wurden sämtlich befallen, jedoch in verschiedenem Maße, 20, 30 bzw. 75%. Drei Organismen konnten aus dem kranken Gewebe isoliert werden. Ein Bakterium, Cephalosporium acremonium und eine Phytophthoraspezies. Als Erreger wurde die Phytophthora ermittelt. Der Pilz wird eingehend beschrieben. Ein Vergleich mit anderen Phytophthoraspezies zeigte, daß der Pilz nahe verwandt, wenn auch nicht identisch mit Phytophthora cactorum ist. Durch Bodensterilisation mit Dampf konnte der Erreger abgetötet werden.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Mehrlich, F. P., Control of Phytophthora heart rot of pineapple plants. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 173—196, 4 figs.)

Bei der durch Phytophthora cinnamomi, Ph. parasitica und Ph. palmivora verursachten Herzfäule der Ananaspflanze bewährte sich von 22 flüssigen und 12 trockenen Mitteln Kupferkalkbrühe von der Formel 1 : 0, 7 : 3 am besten. Das Pflanzenmaterial wurde beim Pflanzen in die Kupferkalkbrühe eingetaucht. Die Kosten betrugen für 10 000 Pflanzen 7 Dollar. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Reydon, G. A., Droge en natte Kollot op de Tabaksbedden. [Rhizoctonia und Phytophthora auf den Tabakbeeten.] (Mededeel. v. h. Besoekisch Proefstation. 1933. No. 50. p. 41—51, mit 3 photogr. Abb.)

In der Residenz Besoeki wurde vom Verf. zum erstenmal Rhizoctonia solani in Tabakkeimlingen festgestellt, „droge (trockene) Kollot" genannt, im Gegensatz zur „natte (nassen) Kollot", verursacht durch Phytophthora nicotianae. Die Blätter der befallenen Pflänzchen zeigen eine schleimig-grüne Farbe und sind manchmal von den Pilzfäden zusammengewebt (Spinngewebepilz in Deli). Nach einigen Tagen sterben die Blätter ab und trocknen mit brauner Farbe ein.

Beim Auftreten von Phytophthora sehen die jungen Pflänzchen ähnlich aus wie die obengenannten, nur behält das Blattgewebe die feuchte, bleigraue Farbe länger bei. Die Diagnose, welche der beiden Krankheiten anwesend ist, kann mit Sicherheit nur im Laboratorium gestellt werden. Diese Feststellung ist wichtig, denn, obwohl Rhizoctonia den Keimlingen großen Schaden zufügen kann und im Gegensatz zu Phytophthora auch bei trockenem, sonnigem Wetter sich ausbreitet, ist letztgenannte Krankheit viel gefährlicher, weil auch alte Tabakpflanzen abgetötet werden können. Rhizoctonia bekämpft man am besten, indem man die Pflänzchen nicht zu dicht sät, Phytophthora mit 1 proz. Bordeauxbrühe.

van Beymathoe Kingma (Baarn).

Wolf, F. A., Dixon, L. F., Mc. Lean, R., and Darkis, F. R., Downy mildew of tobacco. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. S. 337—363, 8 figs.)

Die durch Peronospora nicotianae Speg. verursachte, als Mehltau oder Blaufäule bezeichnete Krankheit des Tabaks hatte sich bisher

vor allem an Tabaksämlingen in Australien gezeigt. 1931 erschien sie in Florida-Georgien. In den beiden folgenden Jahren hat sie sich in den südöstlichen Staaten von U. S. A. nach Tennessee, West-Nord Carolinia, Maryland und Pennsylvanien ausgebreitet. Außer Tabak wurden auch Sämlinge von Tomaten, Pfeffer und der Eierpflanze (Solanum melongena) befallen. Die Krankheitssymptome und der Erreger werden eingehend beschrieben. Für die Keimung von Peronospora nicotianae ist Feuchtigkeit erforderlich. Keimung erfolgte nicht bei etwa 26° C und darüber. Die Verbreitung der Krankheit wird bei klarem Wetter und Temperaturen von etwa 29° C und darüber verzögert. Regnerisches Wetter mit Temperaturen von 10—15° C fördert die Ausbreitung der Krankheit. Methoden zur Verhütung und Bekämpfung der Krankheit konnten bis jetzt noch nicht ermittelt werden. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Shands, H. L., Temperature studies on stripe of barley. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 364—383, 2 figs.)

Das Temperaturoptimum für das Myzelwachstum von Helminthosporium gramineum auf Kartoffelstärkeagar war 25° C, das Maximum lag bei 32° und das Minimum unter 8° C. Gerstenpflanzen entwickelten sich am besten bei 12—16° C. Blüteninfektionen wurden mit Konidienaufschwemmungen vorgenommen. Die Korninfektion erfolgte dadurch, daß die Körner zwischen Lagen von Kartoffelstärkeagar gelegt wurden, auf denen der Pilz wuchs, oder dadurch, daß die Körner in Kontakt mit dem Myzel gebracht wurden, das sich auf sterilisierten Weizenkörnern entwickelte. Mit Schwefelsäure und mit der Hand entspelzte Körner ergaben höheren Befall als nicht entspelzte. Im allgemeinen entwickelte sich die Streifenkrankheit bei niedrigen Temperaturen am besten. Wechsel von niedrigen zu hohen Temperaturen beschleunigt die Krankheitserscheinung, während sie beim Wechsel von hohen zu niedrigen Temperaturen zurückgehalten wurde. Im ersten Fall war auch der Befall höher. Der höchste Befall zeigte sich, wenn die Sämlinge während der Inkubationszeit 4 Tage bei 20° C gehalten wurden oder bei niedrigeren Temperaturen so lange, bis sie denselben Entwicklungsgrad erreicht hatten und dann in ein Gewächshaus von 16° C gebracht wurden. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Walker, J. C., and Murphy, A., Onion bulb decay caused by Aspergillus alliaceus. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 289—291, 1 fig.)

Aspergillus alliaceus wurde zweimal als Fäulniserreger auf eingeführten Knoblauchzwiebeln gefunden. Der Pilz kann auch auf Speisezwiebeln übergehen. Da aber sein Temperaturoptimum bei 28—36° C liegt, ist die Gefahr der Ausbreitung bei Zwiebeln nicht so groß, weil die Lagerung bei Temperaturen unter 20° C erfolgt. Die wachsende Pflanze befällt der Pilz nicht. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Palmiter, D. H., Variability in monoconidial cultures of Venturia inaequalis. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 22—47, 3 figs.)

Die Untersuchungen von Einkonidienkulturen von 14 Apfelsorten aus den Staaten Wisconsin, Oregon, Michigan und New York ergaben, daß es sich bei Venturia inaequalis nicht um eine gleichförmige Spezies

oder um einige bestimmte Formen handelt, sondern um viele Stämme, die in ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften mehr oder weniger voneinander abweichen. So liegt z. B. das Temperaturoptimum bei 20° C, bei dieser Temperatur wachsen aber einige Kulturen doppelt so stark als andere. Ebenso war das Wachstum bei einigen Kulturen bei der günstigsten Wasserstoffionenkonzentration ph 4,8—5,8 viel besser als bei anderen. Eine Kultur zeigte besseres Wachstum auf Nährböden mit Kalziumnitrat als auf solchen mit Kaliumnitrat als Stickstoffquelle. Die Kulturen vertragen auch verschiedene Mengen von Kupfersulfat und Schweinfurtergrün in den Nährlösungen. Ein Teil der Kulturen blieb 3 Jahre lang unverändert, während andere Sektoren bildeten.

2 Spezies von Amelanchier, 9 von Crataegus, 3 von Sorbus, 1 von Aronia und 1 von Cotoncaster konnten mit 6 Kulturen von Venturia inaequalis nicht infiziert werden. Dagegen war die Infektion bei 9 von 13 Malus-Spezies erfolgreich. Von 20 untersuchten Apfelsorten wurden 15 von allen 9 verwendeten Kulturen infiziert, während 5 gegen einige resistent, gegen andere anfällig im Gewächshaus waren.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Smith, G. M., and Trost, J. F., Diplodia ear rot in inbred and hybrid strains of sweet corn. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 151—157, 2 figs.)

Die Annahme, daß Zuckermais stärker von Diplodia zeae befallen wird als Zahnmais, bestätigte sich bei den Versuchen der Verff. nicht. Frühreifender Zahnmais war stärker befallen als spätreifender. Versuche mit 225 Stämmen von Zuckermais zeigten, daß es durch sorgfältige Auslese möglich ist, gegen Diplodia resistente Pflanzen zu erhalten. Bei Kreuzungen von geselbsteten Stämmen von Goldan Bantam und Stowell Evergreen war der Befall geringer als bei den Eltern, bei Country Gentleman jedoch größer.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Sprague, R., A physiologic form of Septoria tritici on oats. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 133—143, 2 figs.)

Im Alsea River Valley in West-Oregon wurde von Dezember 1930 bis Februar 1932 auf saurem Boden eine Blattfleckenkrankheit an Hafer gefunden. Der Erreger unterschied sich in Kultur von Septoria avenae Frank, war dagegen S. tritici sehr ähnlich. Die Form von Hafer ging nicht auf Weizen und die von Weizen nicht auf Hafer über.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Drayton, F. L., The gladiolus dry rot caused by Sclerotinia gladioli (Massey), n. comb. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 397—404, 3 figs.)

Der Entwicklungszyklus des von Massey 1928 beschriebenen Erregers der Trockenfäule der Gladiolen, Sclerotium gladioli, ist nunmehr bekannt. Er kommt vor auf Gladiolus spp., Tritonia (Monbretia) crocosmaeflora, Freesia spp., Lapeirousia (Anomatheca) cruenta und Crocus spp. Verbreitet ist er in den Vereinigten Staaten, Canada, England, Schottland, Irland, Holland, Deutschland, Frankreich und Neu-Seeland.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Doyer, Lucie C., De gezondheidstoestand van klaverzaad in verband met de keuring van dit zaad en de invloed van ontsmetting op dezen toestand. [Der

Gesundheitszustand von Kleesamen in bezug auf Prüfung dieser Samen und der Einfluß der Desinfektion auf denselben.] (Tijdschr. Plantenz. Heft 2, Febr. 1934. S. 54—61, mit 2 Taf. u. 1 Tab.)

Von den Pilzen, welche Fehlstellen auf den Kleefeldern verursachen können, muß neben Mitrula sclerotiorum Rostr. und Typhula trifolii Rostr. an erster Stelle Sclerotinia trifoliorum Eriks. genannt werden. Die Sklerotien dieses Pilzes werden bisweilen zwischen den Kleesamen angetroffen. Eine Verwechslung dieser Sklerotien mit den viel kleineren von Typhula trifolii sollte bei genauer Betrachtung ausgeschlossen sein, scheint jedoch immerhin vorgekommen zu sein. Verf.n fand die Sklerotien von Sclerotinia trifoliorum nur ein einziges Mal, dagegen mehrmals solche von Claviceps. Desinfektion der Samen ist zu empfehlen, besonders deshalb, weil auch andere Pilze wie Botrytis, Fusarium und Macrosporium auftreten können. Versuche mit Germisan und Ceresan in ¼ proz. Lösung während 1 Std. ergaben günstige Resultate: Beschleunigung der Keimung, Steigerung der Keimfähigkeit, Zunahme der Zahl gesunder Pflänzchen und vor allen Dingen fast gänzliches Verschwinden der Pilze in den Keimbeeten. Daß in vereinzelten Fällen jedoch eine Abnahme der Keimfähigkeit festgestellt werden konnte, weist auf eine größere Empfindlichkeit der Kleesamen gegen diese Fungizide hin, so daß vor jeder Desinfektion größerer Partien ein orientierender Vorversuch angebracht erscheint. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Thomas, H. E., Studies on Armillaria mellea (Vahl.) Quel., infection, parasitism, and host resistance. (Journ. Agric. Research. Vol. 48. 1934. p. 187—218.)

Verf. untersuchte das Eindringen und weitere Verhalten von Armillaria mellea an Wurzeln und Knollen verschiedener für diesen Pilz anfälliger und resistenter Arten. Das Eindringen der Rhizomorphen (Myzelstränge) des Pilzes erfolgt bei beiderlei Arten in der gleichen Weise, nämlich so, daß kompakte Fortsätze des Rhizomorphen durch die gesunde Korklage ins Innere vorgetrieben werden, ohne daß dabei eine Aufsplitterung in Einzelhyphen stattfindet. Beim Eindringen sind außer mechanischen offenbar auch starke chemische Kräfte wirksam. Es spricht alles dafür, daß der Pilz ein Enzym bildet, das das Suberin angreift, eine anscheinend sonst bei keinem Pilz bisher angetroffene Eigenschaft. Wunden spielen beim Eindringen jedenfalls bei weitem nicht die wichtige Rolle, die ihnen früher zugeschrieben wurde. Verf. folgert aus seinen Versuchen und Beobachtungen, daß der Pilz auf den resistenten Arten nach dem Eindringen durch Gegenwirkungen des Wirts in irgendeiner Weise gehemmt wird. Der Pilz zerstört dann nur geringe Teile der angegriffenen Wurzel, die Eintrittswunden verkorken rasch und verheilen. In anfälligen Wurzeln dagegen zeigt der Pilzstrang gleich nach dem Eindringen starkes Wachstum und zerstört das Wirtsgewebe auf weite Strecken. E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Nisikado, Y., Matsumoto, H., and Yamauti, K., Reports on the physiological specialization of Fusarium. I. On the differenciation of the pathogenecity among the strains of rice-"Bakanae" fungus. (Berichte des Ohara Instituts f. landw. Forschung. Bd. 6. 1933. S. 113—130.)

Nisikado, Y., and Matsumoto, H., II. Temperature relations to the growth of the rice-"Bakanae" fungus. (Ebenda. S. 131—147.)

Verff. untersuchten insgesamt 65 Stämme von Lisea Sujikuroi Saw. aus verschiedenen Gegenden Japans an Maissämlingen. Zum Vergleich wurden 5 Stämme von Fusarium moniliforme Sh. und F. und F. moniliforme Sh. v. majus Wr. et Rg. verwendet. Es zeigten sich große Unterschiede in der Pathogenität gegenüber Maissämlingen.

Aus 70 Stämmen von Lisea Fujikuroi Saw wurden 10 mit bemerkenswerten Eigenschaften wie Pathogenität gegenüber Maissämlingen, Bildung von Luftmyzel und Konidien sowie Farbe der Kolonien ausgewählt und genauer untersucht. Kulturmedium war Malzextrakt-Agar. Als Maßstab für das Wachstum wurde der Durchmesser der Kolonien zugrunde gelegt. Das Temperaturoptimum lag bei 27° C, das Maximum bei 35—36° C, das Minimum bei 7—8° C. Bei den zum Vergleich untersuchten Stämmen von Fusarium moniliforme Sh. und F. moniliforme var. majus Wr. et Rg. war das Temperaturoptimum 29°·C, außerdem war das Wachstum stärker. Manche Stämme von Lisea Fujikuroi erzeugten rotes Pigment auf gekochtem Mais, während ein Stamm gelbes erzeugte. Bei diesem Stamm war das Temperaturoptimum 24—27° C. Ein Stamm wuchs bei höherer Temperatur. Die Bildung von Luftmyzel wurde durch die Temperatur bei manchen Stämmen beeinflußt, bei anderen dagegen nicht. Bei den meisten Stämmen waren die Ränder der Kolonien dick, fest und deutlich, wenn sie bei höheren Temperaturen wuchsen, während sie bei niedrigen Temperaturen dünn, locker und undeutlich waren. Bei manchen Stämmen waren die Eigenschaften der Ränder je nach der Temperatur, die bei der Kultur herrschte, verschieden.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Ezekiel, W. N., and Taubenhaus, J. J., Variety tests in differentiation of two cotton wilts. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 292—295, 1 fig.)

Versuche mit der durch Fusarium vasinfectum verursachten und der als „Waxahachie wilt" bezeichneten Baumwollwelke zeigten, daß Anfälligkeit der Sorten gegen die beiden Krankheiten vielfach verschieden ist und daß daher auf diese Weise die Krankheiten unterschieden werden können.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Dahl, A. S., Snowmold of turf grasses as caused by Fusarium nivale. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 197—214, 6 figs.)

Auf Golfplätzen kommt auf Poa pratensis, Poa annua, Agrostis alba, A. palustris, A. canina, A. tenuis und Festuca rubra Schneeschimmel vor. Der Erreger ist Fusarium nivale. Reichliche Feuchtigkeit im Herbst, tiefe Schneedecke auf nicht gefrorenem Boden, ein langes feuchtkaltes Frühjahr, Anwendung von Dünger im Spätherbst, Vorhandensein von viel organischen Bestandteilen im Boden oder das Bedecken des Rasens mit Stroh begünstigen das Auftreten des Schneeschimmels. Bei Infektionsversuchen zeigte sich der stärkste Befall bei 0—5° C. Durch breitwürfiges Ausstreuen von 3 Unzen Sublimat oder Kalomel auf 1000 Quadratfuß konnte die Krankheit wirksam be-

kämpft werden. Zur besseren Verteilung wurden die Mittel innig mit Sand oder feiner Komposterde vermischt. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Mains, E. B., Host specialization of Puccinia Sorghi. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 405—411.)

Verf. bringt weitere Beweise dafür, daß Puccinia Sorghi selbst steril ist. Äzidien werden nicht entwickelt bei Infektionen durch einzelne Basidiosporen. Pykniden und Äzidien wurden auf Oxalis corniculata, O. europea und O. stricta, Pykniden selten auf O. bipartita und O. valdiviensis hervorgerufen. Weder Äzidien noch Pykniden wurden auf O. articulata, O. brasiliensis, O. carnosa, O. crassipes, O. Deppei, O. filipes, O. floribunda, O. lasiandra, O. latifolia und O. violacea erhalten. O. corniculata war anfällig für alle 8 untersuchten Herkünfte. Äzidien wurden bei O. europea nur nach Infektion mit 2 Herkünften beobachtet. Infektion mit Äzidien und Uredosporen vom Mais erzeugten Uredosporen auf Mais und Guatemalagras (Euchloena luxurians). Ohne Erfolg waren die Infektionen bei Andropogon furcatus, A. scoparius, Coix lachryma-jobi, Erianthus divaricatus, Holcus Sorghum, Tripsacum dactyloides und Sorghastrum nutans. Verf. nimmt an, daß der Andropogon-Rost mit der Äzidienform auf Oxalis eine besondere Rasse von Puccinia Andropogonis ist.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Becker, H., Zur Immunitätszüchtung des Weizens gegen Puccinia glumarum und Puccinia triticina. (Kühn-Archiv. Bd. 38. 1933. S. 293—305.)

Verf.n gibt einen Überblick über die immunitätszüchterischen Arbeiten des Instituts für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung in Halle gegen Puccinia glumarum und P. triticina. Beim Gelbrost sind jetzt 19 biologische Rassen isoliert worden. Für die Infektion bei den züchterischen Arbeiten sind die Rassen 1, 4, 7, 8, 18 benutzt worden, mit denen vermutlich die wichtigsten Befallsunterschiede erfaßt werden. Hinsichtlich des Erbganges konnte bisher nur festgestellt werden, daß sich die Resistenz nicht einheitlich dominant oder rezessiv durch einen oder eine bestimmte Anzahl Faktoren vererbt, daß der Erbgang vielmehr je nach Ausgangssorte und Kreuzungspartner wechselt. Weitere Angaben betreffen die Methode der Prüfung und den Gang der praktischen Züchtung. Die Immunitätszüchtung gegen P. triticina ist in Halle erst 1933 aufgenommen worden. Besonders große Hoffnungen werden auf Züchtungsmaterial gesetzt, in dem die Sorten Normandie oder Blausamtiger Kolben enthalten sind, da hier die Aussicht auf Vereinigung von Gelb- und Braunrostresistenz und anderen wirtschaftlich wertvollen Eigenschaften besteht.

Braun (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G. und Kirchhoff, H., Einige vergleichende Versuche über Verschiebungen der Rostresistenz in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand der Getreidepflanzen. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. S. 43—52.)

Verff. haben Freilandinfektionen mit Puccinia triticina Rasse 14, P. glumarum R. 4, P. coronifera R. Gliesmarode und P. simplex R. 2 an Weizen- bzw. Hafer- bzw. Gerstenpflanzen durchgeführt,

die sich im Zeitpunkt der Infektion durch kontinuierliche Aussaaten in verschiedenen Entwicklungsstadien befanden. Die Ergebnisse sind nur lückenhaft, weil sich die klimatischen Verhältnisse Deutschlands für die Durchführung derartiger Versuche wenig eignen. Für P. glumarum konnte lediglich nachgewiesen werden, daß das Zurückgehen des Rostes im Sommer nicht auf eine höhere Resistenz älterer Pflanzen zurückgeführt werden kann. Gegenüber P. triticina stieg die Anfälligkeit der Blätter mittlerer Insertionshöhe etwa zur Zeit der Blüte, diejenige des obersten Blattes etwas später an. Gegenüber P. coronifera und P. simplex war die Resistenz vor dem Schossen deutlich höher als in späteren Entwicklungsstadien. Das Anfälligkeitsstadium wird von den Blättern mittlerer Insertionshöhe früher erreicht als von dem obersten Blatt.

Braun (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G. und Hassebrauk, K., Zweijährige Feldversuche über den Einfluß der Düngung auf die Rostanfälligkeit von Getreidepflanzen. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. S. 53—62.)

Bezüglich der Stickstoffwirkung auf die Rostanfälligkeit ist leidliche Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Versuchsanstellern erzielt, nicht dagegen hinsichtlich der Wirkung von Kali und Phosphorsäure. Verff. haben deshalb nach Freilandinfektionen nochmals das Rostbild von K-, P- und N-Mangelpflanzen mit demjenigen von Volldüngungsparzellen verglichen unter Benutzung folgender Rostarten: P. triticina Rasse 14, P. glumarum R. 4, P. coronifera R. Braunschweig und P. sorghi. Es konnte erneut festgestellt werden, daß Kalimangel die Anfälligkeit, Stickstoffmangel die Resistenz erhöht. Entscheidend ist das jeweilige Mengenverhältnis von P : N : K, insbesondere von N : K. Steigerung der Stickstoffdüngung ohne entsprechende Steigerung der Kalidüngung erhöht die Anfälligkeit. Bei normalem Verhältnis von N : K verschiebt Phosphorsäure nicht die Resistenz, bescheunigt aber den Vegetationsablauf.

Braun (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G. und Hassebrauk, K., Der Einfluß der Mineralsalzernährung auf das Anfälligkeitsverhalten der zur Rassenbestimmung von Getreiderosten dienenden Standardsortimente. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. S. 63—72.)

Verff. haben 4 Standardsortimente (für Puccinia triticina, P. glumarum, P. coronifera, P. simplex) mit 5 Rostrassen infiziert bei Staffelung der N- und K-Gabe. Es wurden mehr oder minder starke Verschiebungen des Infektionsverhaltens festgestellt, die besonders beim Gerstensortiment in die Erscheinung traten. Deshalb ist in Zukunft bei Rostrassenprüfungen der Ernährung mehr Beachtung zu schenken. In gewissen Fällen wird die Verwendung eines künstlichen Nährbodens mit einem bestimmten Nährsalzgehalt nicht zu umgehen sein.

Braun (Berlin-Dahlem).

Gaßner, G. und Franke, W., Der Stickstoffhaushalt junger Weizenpflanzen in seiner Abhängigkeit von der Mineralsalzernährung. Ein Beitrag zum Problem der Rostresistenz. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. S. 178—222.)

Verff. wollen die von Gaßner und Hassebrauk ausgesprochene

Vermutung stützen, daß die durch die Mineralsalzernährung verursachten Verschiebungen der Rostresistenz durch gleichsinnig verlaufende Veränderungen des Stickstoffhaushalts, insbesondere des Eiweißgehaltes der Blätter, bedingt werden. Zu diesem Zweck haben sie vergleichende Untersuchungen mit den Weizensorten Strubes Dickkopf, v. Rümkers Sommerdickkopf und Malakoff durchgeführt, von denen die erste stark anfällig, die zweite mäßig resistent und die dritte hoch resistent gegen Puccinia triticina Form XIV ist. Sie konnten zunächst feststellen, daß steigende Kaligaben eine Verringerung sämtlicher Stickstoffwerte, steigende Stickstoffgaben ein Anwachsen aller dieser, gleichzeitige Steigerung beider Gaben ebenso wie Phosphorsäure nur geringe Verschiebungen zur Folge haben, was im Einklang mit der Änderung der Rostresistenz mittelanfälliger Sorten steht. Dagegen konnte nicht klargestellt werden, ob die Resistenz der Blätter durch die Änderung der Eiweißmengen oder der löslichen Stickstoffverbindungen bestimmt wird. Bei allen drei Sorten erlitten die Stickstoffwerte durch die Änderung der Mineralstoffernährung die gleiche Verschiebung. Andrerseits ergaben sich zwischen sortenspezifischer Anfälligkeit und Stickstoffwerten keine Beziehungen. Daraus folgt, daß die Sortenresistenz vermutlich nicht auf quantitative Verschiedenheiten des Stickstoffgehaltes zurückzuführen ist, sondern auf qualitative Unterschiede innerhalb der vorhandenen Eiweißverbindungen. Um die beobachteten Erscheinungen miteinander in Einklang zu bringen, haben die Verff. eine Hypothese aufgestellt, die sowohl der spezifischen Reaktion der Sorte, als auch dem Einfluß der Mineralsalzernährung gerecht zu werden scheint.

Braun (Berlin-Dahlem).

Schreiber, F., Resistenzzüchtung bei Buschbohnen. (Kühn-Archiv. Bd. 38. 1933. S. 287—292.)

Verf. hat die von Emerson und Reddick gezüchtete, qualitativ wenig gute Kochbohne „Anthracnose resistent Cornel Nr. 22" mit den hochwertigen Sorten „Konserva" und „Wachs Beste von Allen" gekreuzt und bei Infektion mit etwa 34 physiologischen Rassen festgestellt, daß letztere sich in 3 Gruppen zusammenfassen lassen, indem sich bei Infektion mit den Angehörigen einer Gruppe in der F_2 ein Verhältnis von 3 widerstandsfähig : 1 anfällig ergab, bei Infektion mit 2 Gruppen ein solches von 9 : 7 und bei Infektion mit 3 Gruppen ein solches von 27 : 37. Zunächst sind deshalb 3 Hauptresistenzfaktoren angenommen. Außer diesen sind aber vermutlich noch weitere Faktoren wirksam, wie sich aus anderen als den bisher angeführten Zahlenverhältnissen und aus abgeschwächtem Befall vermuten läßt, so daß Verf. auf das Vorhandensein von mindestens 8 Erbanlagen schließt. Trotz dieser Vermehrung der Erbfaktoren und der physiologischen Rassen glaubt Verf., bereits in der 6. Generation homozygot resistente Stämme gefunden zu haben.

Braun (Berlin-Dahlem).

Meurs, A., Parasitic stemburn of Deli tobacco. (Phytopath. Ztschr. Bd. 7. 1934. S. 169—186.)

Von stengelbrandkrankem Deli-Tabak hat Verf. in den Jahren 1929 bis 1932 drei verschiedene Pythium-Arten isolieren können: P. aphanidermatum (Eds.) Fitzp., P. myriotylum Drechsler und eine neue Spezies, die von Jochems anscheinend zunächst für P. debaryanum gehalten worden ist, nunmehr aber P. deliense genannt und für die eine genaue Diagnose gegeben wird. Ebenso ist die Diagnose von Drechs-

ler für P. myriotylum wörtlich mit aufgenommen worden, da die neueste zusammenfassende Darstellung der Gattung durch Matthews sie noch nicht enthält. Dieser Pilz ist erstmalig außerhalb der Vereinigten Staaten nachgewiesen worden. P. delicense ist sehr ähnlich, P. indigoferae Butler weist aber diesem gegenüber doch ganz charakteristische, näher beschriebene Unterschiede auf. Die 4 genannten Pilze sind vergleichend auf 9 verschiedenen Nährböden beobachtet worden. Abschließend werden einige Angaben über die regionale Verteilung der 3 Parasiten gegeben. Braun (Berlin-Dahlem).

Zeller, S. M. und **Lund, W. T.**, Yellow rust of rubus. (Phytopathology. 1934. Vol. 24. p. 257—265, 1 fig.)

Verff. berichten über weitere Versuche mit dem durch Phragmidium rubiidaei verursachten Gelbrost der Himbeere. Die Untersuchungen erstreckten sich insbesondere auf den Einfluß von Niederschlägen und der Temperatur auf das Auftreten der Krankheit. Außerdem wurden 30 Sorten und Spezies von Rubus im Gewächshaus auf ihre Anfälligkeit untersucht. Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Lehmann, S. G., Frog-Eye (Cercospora diazu Miura) on stems, pods, and seeds of soybean, and the relation of these infections to recurrence of the disease. (Journ. Agric. Research. Vol. 48. 1934. p. 131—147.)

Die Arbeit bringt eine genaue Beschreibung der verschiedenförmigen Flecken, die der „Froschaugenpilz" Cercospora diazu auf Blättern, Stengeln, Hülsen und Samen seiner Wirtspflanze, der Soja-Bohne, verursacht. Der Pilz überwintert auf Blättern und Stengeln. Er kann mit infiziertem Samen in unberührte Gegenden verschleppt werden. Bisher wurde er in der Mandschurei, in Japan und in einigen Südstaaten der nordamerikanischen Union angetroffen. Der Pilz läßt sich ohne besondere Schwierigkeit auf künstlichem Substrat kultivieren. E. Köhler (Berlin-Dahlem).

Broekhuysen, M. J., Wilgenkanker, veroorzaakt door Discella carbonacea (Fries) Berk. et Br. [Weidenkrebs, verursacht durch Discella carbonacea (Fr.) Berk. et Br.] (Tijdschr. Plantenz. Heft 2, Febr. 1934. S. 62—63, mit 1 Taf.)

Verf. beschreibt einen Fall von Absterben der Zweige bei Salix minimalis L., verursacht durch den Pilz Physalospora salicis Sacc. Daneben traten auf den noch lebenden Teilen der Zweige braungrüne Flecke auf, welche sich in 2 bis 3 Tagen stark ausbreiteten. In diesen Flecken wurden die Fruchtkörper von Discella carbonacea festgestellt, welcher Pilz leicht in Reinkultur gezüchtet werden konnte. Infektionsversuche gelangen sehr leicht. Die Bekämpfung des Pilzes geschieht durch Entfernung der abgefallenen Blätter und Desinfektion der befallenen Zweige und der entstandenen Wundstellen durch Bespritzen mit geeigneten Flüssigkeiten. van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Buisman, Christine, Verslag van de onderzoekingen over de iepenziekte, verricht in het Phytop. Lab. W. C. Scholten te Baarn gedurende 1933. [Bericht über

die im Phytop. Lab. W. C. Scholten ausgeführten Untersuchungen über die Ulmenkrankheit während 1933.] (Tijdschr. Plantenz. Heft 3, März. 1934. S. 65—90.)

Allgemein kann gesagt werden, daß auch im Jahre 1933 die Ulmenkrankheit in starkem Maße in Holland aufgetreten ist. Die Zahl der Bäume allein, welche auf Anweisung der Behörden gefällt werden mußten, beläuft sich auf etwa 70 000 Exemplare. Auf den Nordsee-Inseln wurde die Krankheit auch gefunden, ohne daß gerade von Ansteckungsherden gesprochen werden konnte. In den Vereinigten Staaten wurden viele Krankheitsfälle gemeldet, welche, wie man annimmt, mit dem Holze aus Frankreich eingeschleppt wurden.

Was die Infektionsversuche anbetrifft, wurden diese beschränkt auf diejenigen Ulmensorten und Varietäten, welche nach den früheren Versuchen sich als mehr oder weniger widerstandsfähig gezeigt hatten. Die Versuche, welche zwischen dem 30. Mai und 25. August stattfanden, beschränkten sich auf die beiden Sämlinge U. foliacea und U. glabra, sowie auf einige Sämlinge aus Frankreich, genannt Orme noir d'Amérique. Die in Tabellen zusammengefaßten Resultate ergaben, daß von den U. glabra- und den französischen Sämlingen kaum ein einziger gesund geblieben ist. Für U. foliacea liegt die Sache etwas günstiger. Von den asiatischen Ulmen reagierte ein Teil deutlich positiv, ein anderer Teil zeigte sich ebenfalls als nicht ganz unempfindlich, nur U. pumula pennato-ramosa wies keine Krankheitserscheinungen auf. Ein Versuch mit U. glabra Hudson ergab, daß Infektionsversuche erst ab 15. April Resultate zeigten, wobei die günstigste Zeit ab 20. Mai läuft. Weiter versuchte Verf.n, Ulmen mittels einer Sporenaufschwemmung von Graphium ulmi durch Bespritzen der Bäume zu infizieren. Krankheitserscheinungen traten jedoch nur dann auf, wenn die betreffenden Zweige zuvor verwundet worden waren.

Schließlich wurden zwei mit dem Pilze Beauveria Bassiana (Bals.) Vuill. beschimmelte Käfer (Scolytus) angetroffen. Nach Verf.n hat aber eine Bekämpfung mittels dieses Pilzes wenig Aussicht auf Erfolg.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Trumbower, J. A., Control elm leaf spot in nurseries. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 62—73, 3 figs.)

An Ulmus americana traten 1932 in Nordillinois in einer Baumschule 3 Arten von Blattfleckenkrankheiten auf, die vielfach zur Entlaubung führten. Erreger waren Gnomonia ulmea (Schw.), Gloeosporium ulmicolum (Miles) und Gloeosporium inconspicum (Cavara); der letzte war der verbreitetste. Durch dreimaliges Bespritzen mit Kupferkalkbrühe 4 : 4 : 50, Koloform, „Dry wettable flotation sulphur" oder dreimaliges Bestäuben mit Kolodust oder „flotation sulphur dust" konnte die Entlaubung verhindert werden. 4- oder 5-malige Behandlung zeigte noch bessere Ergebnisse.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

's Jacob, J. C., Een nieuwe bibitziekte in de Besoeki-Tabak. [Eine neue Keimlingskrankheit im Besoeki-Tabak.] (Mededeel. v. h. Besoekisch Proefstation. 1933. No. 50. p. 54—60, mit 5 Fig. u. 2 photogr. Abb.)

Verf. beschreibt eine Krankheit der Tabakkeimlinge, verursacht durch den Pilz Pythium aphanidermatum (Eds.) Fitzp., welche neu ist für Ostjava und bisher nur bekannt von Togoland und Südindien. Bei

ganz jungen, erst einige Wochen alten Keimlingen sieht man, wie dieselben plötzlich zu welken anfangen und schnell eintrocknen. Die Infektion findet an der Stengelbasis und an den Wurzeln statt, während die Blätter nicht befallen werden. Die Krankheit breitet sich über alle Keimlinge aus, typisch aber in der Weise, daß nicht alle Pflänzchen zu gleicher Zeit angegriffen werden, so daß die Beete durch den Pilz gelichtet werden, bis schließlich nichts mehr übrigbleibt. Sind die Pflänzchen älter, so kann die Krankheit auch auf die Blätter übergehen, und diese zeigen dann ein mehr schleimiges Aussehen; bei der Ausbreitung des Pilzes wird nun jede Pflanze sofort angegriffen. Infektionsversuche mit dem Pilze ergaben positive Resultate. Zur Bekämpfung erwies sich Bordeauxbrühe als nicht geeignet. Bei öfterem Auftreten werden daher weitere Bekämpfungsversuche nötig sein.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Kießling, L. E., Biologische Maßnahmen zur Unterdrückung des Kartoffelschorfes. (Kühn-Archiv. Bd. 38. 1933. S. 184—199.)

Nach einigen Angaben über bisherige Beobachtungen hinsichtlich des Antagonismus von Bakterien und Pilzen berichtet Verf. über eigene Untersuchungen zu dieser Frage. Er hat Actinomyces scabies, A. flavus und zwei aus Komposterde isolierte Stämme der gleichen Gattung zunächst auf ihre gegenseitige Beeinflussung untersucht, wobei die Myzelernte, der ph-Wert und die Ammoniakbildung als Maßstab benutzt worden sind. Weiterhin ist die Beeinflussung von 9 Actinomycetenstämmen durch 2 Bakterienstämme geprüft worden, über deren Art- und Gattungszugehörigkeit merkwürdigerweise nichts gesagt wird. Im Feldversuch sind die Ergebnisse der Laboratoriumsversuche nachgeprüft worden. Verf. glaubt festgestellt zu haben, daß auf den Parzellen ohne „Gegenbakterien" starker Schorfbefall auftrat, während die Knollen auf den mit Gegenbakterien behandelten Parzellen fast völlig schorffrei waren. Reisolierung des zur Infektion verwandten Actinomycesstammes gelang. Daneben wurden auch stark abweichende Formen isoliert, die Verf. möglicherweise als „Umwandlungsformen" dieses Stammes ansehen möchte. Solche „Biotypen" sollen besonders dann im Boden entstehen können, wenn es sich um Reinkulturen handelt, die seit Jahren auf künstlichem Nährsubstrat vermehrt worden sind. Verf. glaubt bewiesen zu haben, daß der Weg einer Bekämpfung des Flachschorfes der Kartoffeln mittels spezifischer antagonistisch wirksamer Bakteriengruppen gangbar ist.

Braun (Berlin-Dahlem).

Walker, J. C., Production of cabbage seed free from Phoma lingam and Bacterium campestre. (Phytopathology. Vol. 24. 1934. p. 158—160.)

Phoma lingam und Bacterium campestre werden mit dem Saatgut übertragen. Es zeigte sich, daß Kohlsamen, der in dem Skagit Valley geerntet wird, frei von den genannten Erregern ist. Verf. konnte nachweisen, daß das darauf zurückzuführen ist, daß in dieser Gegend in den letzten 3 Monaten nach der Aussaat nur geringe Niederschläge fallen. Es ist daher möglich, Kohlsamen, die frei von Phoma lingam und Bacterium campestre sind, dort zu ziehen, wo die Niederschläge in den ersten Monaten nach der Aussaat gering sind.

Winkelmann (Berlin-Dahlem).

Abgeschlossen am 31. August 1934.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 90 enthaltenen Arbeiten.

Alakrinskaja, N., s. **Kulikow, W.**

Albert, H. & E., s. **Chemische Werke** vorm. **H. & E. Albert.**

Aleschina, W., s. **Tauson, W.**

Andrewes, C. H., s. **Burnet, F. M.**

Appel, O., Sorauers Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 1. Bd. Die nichtparasitären und Viruskrankheiten. I. Teil, 6. Aufl. 170

—, Tomatenkrankheiten. 286

Aschner, M. und **Ries, E.**, Das Verhalten der Kleiderlaus bei Ausschaltung ihrer Symbionten. 191

Austin, M. D., and **Jary, S. G.**, Investigations on the Insect and allied pests of cultivated mushrooms. I. Sciara fenestralis Zell. 369

Bach, H., Verfahren zur Herstellung eines Düngemittels aus Torf und Abwasserklärschlamm. 283

Bamag-Meguin A.-G., Verfahren zur Herstellung von Milchsäure. 270

Barnes, M. N. und **Rahn, O.**, Tötung von Hefen durch Strahlung des menschlichen Körpers. 380

Barssow, K. und **Sotschilowa, A.**, Zur Zählmethodik von B. coli mittels Membranfilter. 173

Barthel, G., Der Einfluß einer feldmäßigen K_2O- und P_2O_5-Düngung auf die Mikroorganismentätigkeit im Boden und die Beziehungen dieser zu den Felderträgen. 450

Baumann, J., Untersuchungen über die milchwirtschaftlich wichtigen Bakterien in den Faeces des Rindes. 443

Becker, H., Zur Immunitätszüchtung des Weizens gegen Puccinia glumarum und Puccinia triticina. 459

Bekker, S., Zur Frage des Einflusses von CO_2 auf die Mikroflora des Kornes (Weizen). 440

Bernard, W. N., s. **Israilski, W. E.**

Bernhauer, K., Verfahren zur Herstellung von Glukonsäure oder Zitronensäure und deren Salzen. 271

Betrem, J. G., Orienteerende proeven met blauzuurgas tegen Witte Luis en Takkenboeboek. 372

Birch-Hirschfeld, L., Über die Wirksamkeit der Extrakte von auf Zellophanagar gezüchteten Staphylokokken. 346

— - —, Über die Agglutination von Staphylokokken durch Bestandteile des Säugetierplasmas. 440

Blanck, E., Handbuch der Bodenlehre. 5. Bd.: Der Boden als oberste Schicht der Erdoberfläche. 77

Blodgett, F. M., and **Mader, E. O.**, A method of recording the distribution of copper dusts or sprays on leaves. 453

Blunk, H. und **Prüß, M.**, Reinigung von Abwasser durch stufenweise biologische Behandlung. 356

Bode, G., Reinigung von Schlauchleitungen. 88

Böhme, Warum so viel stippige Äpfel? 362

Börner, C., Die Verbreitung der Reblaus in Deutschland nach dem Stande des Jahres 1932. 375

Bonestell, A., s. **Kofoid, C. A.**

Borchert, A., Untersuchungen über die krankheitserregende Wirkung des Bac. orpheus bei der Bienenbrut. (Orig.) 1

Bortels, H., s. **Stapp, C.**

Bosurgi, G. und **Stukart, P.**, Verfahren zur Aufarbeitung von Fruchtsäften, insbesondere Agrumensäften, zwecks Gewinnung von Zitronensäure bzw. deren Salzen. 271

Boulle, L., s. **Matthias, P.**

Braun, J., Variabilitätsstudien bei Streptokokken, Pneumokokken und Enterokokken. 79

—, **K.**, Acocanthera-Arten als Giftpflanzen. 383

—, Tephrosia Vogelii Hook f. als Fischgiftpflanze im früheren Deutsch-Ostafrika. 384

Bremer, H., Die Mehlkrankheit der Zwiebeln (Sclerotium cepivorum Berk.). 366

Brischke, G. W. A., Die Beseitigung der hartnäckigsten chronischen Infektionsquelle im Brauereibetrieb. 178

Broekhuysen, M. J., Wilgenkanker, veroorzaakt door Discella carbonacea (Fries) Berk. et Br. [Weidenkrebs, verursacht durch Discella carbonacea (Fr.) Berk. et Br.] 462

Brown, J. W., s. **Skinner, C. E.**
—, **R.**, Nitrogen Fixation by the Endophyte of Lolium. 380
Brucker, K., Der Wurzelkropf. 367
Brussoff, A., Corynebacterium ferreosiliceum n. sp. (Orig.) 162
Bruyn, Helena de, Kwade harten van de erwten. (Herzfleckigkeit der Erbsen.) 94
Bryan, Mary K., Bacterial speck of tomatoes. 367
Buchner, P., Studien an intracellularen Symbionten. VII. Die symbiontischen Einrichtungen der Rüsselkäfer. 191
Buhrer, E. M., s. **Steiner, G.**
Buisman, Christine, Verslag van de onderzoekingen over de iepenziekte, verricht in het Phytop. Lab. W. C. Scholten te Baarn gedurende 1933. (Bericht über die im Phytop. Lab. W. C. Scholten ausgeführten Untersuchungen über die Ulmenkrankheit während 1933.) 462
Burgeth, I. A., Some factors influencing germination of spores of Phyllosticta solitaria. 441
Burke, V., Interchange of Bacteria between the fresh water and the sea. 356
Burnet, F. M. und **Andrewes, C. H.**, Über die Natur der filtrierbaren Vira. Überblick über neuere Virusuntersuchungen, unter besonderer Berücksichtigung der einschlägigen Arbeiten aus dem National Institute for Medical Research, London. 349
Burgwitz, G. K., Zur Frage der Ausnutzung von Algen für Alkoholgewinnung und Hefezüchtung. 89
Burrell, A. B., s. **McDaniels, L. H.**

Caldwell, M. E., s. **Jordan, E. O.**
Carbone, D., L'influence du fer sur la coloration des fibres dans le rouissage par le B. felsineus. (Deuxième note.) 359
—, L'influence du fer sur la coloration des fibres dans le rouissage par le „Bacillus felsineus". (Troisième note.) 359
Carey, C. L., s. **Waksman, S. A.**
Caroll, J., A study of the Potato Eelworm (Heterodera schachtii) in the Irish Free State. 183
—, **W. R.**, A study of Rhizobium species in relation to nodule formation on the roots of Florida legumes. II. 439
Castelli, T., Su alcune Hansenule della fermentazione panaria. 85
Cheal, W. F., Apple scab spraying experiments in the Wisbeck area: The times of application. II. 453
Chemische Werke vorm. **H. & E. Albert**, Verfahren zur Herstellung organischer Düngemittel. 282
Cholodny, N. G., A soil chamber as a method for the microscopic study of the soil microflora. 283
Collins s. **Hammer, B. W.**
Comm. Solvents Corp., Verfahren zur Gewinnung der Gärgase bei Herstellung von Aceton und Butylalkohol. 269
Condit, I. J., and **Horne, W. T.**, A mosaic of the fig in California. 369
Conrad, J. P., The relation of colloidal dispersion in soils to chemical changes induced by biological transformations of organic materials. 449
Cotton, A. D., Disappearance of Zostera marina. 361
Cowles, P. B., A Bacteriophage for Cl. tetani. 351
Creager, D. B., Leaf scorch of narcissus. 179
Cunningham, A., s. **Glathe, H.**
Curzi, M., La maladie de l'encre sur le noyer (Juglans regia). 367

Dahl, A. S., Snowmold of turf grasses as caused by Fusarium nivale. 458
Dahr, P., Kultur von Diphtherie- und anderen Korynebakterien in Kohlensäuregas. 439
Damm, Döring, Dyrenfurth, Hübner und **Richter**, Die Gebrauchswasserversorgung von Molkereien und anderen Nahrungsmittelbetrieben. 355
Darkis, F. R., s. **Wolf, F. A.**
Davidson, J., The distribution of Sminthurus viridis L. (Collembola) in South Australia, based on rainfall, evaporation and temperature. 373
—, The environmental factors affecting the development of the eggs of Sminthurus viridis L. (Collembola). 374
Demeter, K. J. und **Sauer, H.**, Lassen sich Beziehungen zwischen den Ergebnissen der Stallkontrolle nach dem Punktsystem und dem bakteriologischen Befund der Milch aufstellen? 175
—, —, **F.**, Beiträge zur Kenntnis der Coliaerogenes-Bakterien in Milch. 351
De'Rossi, G., La fixation de l'azote élémentaire dans le sol. — II. Les Azotobacters dans les différents terrains d'Italie. 282
Dianowa, E. und **Woroschilowa, A.**, Ultrafilter für bakteriologische Untersuchungen. (Orig.) 398
Diddens, Harmanna A., Eine neue Pilzgattung, Hyalodendron. (Orig.) 315
Dikomeit, B., Geruchlose Desinfektion mit sauren Rhodanidlösungen (Tonerde-Rhodan). 172
Dimitrijević-Speth, V., Der Einfluß von Salzen und Nährzusätzen auf die Festigkeit von Agarnährböden. 344
— - —, und **Haupt, H.**, Agarmembranfiltration von Bakterien und Anwendungsmöglichkeiten zur Anreicherung und Trennung von Bakterienarten, unter besonderer Berücksichtigung der Stuhlkultur. 343

Dixon, L. F., s. **Wolf, F. A.**
Döring s. **Damm.**
Dooren de Jong, L. E. den, Über Micrococcus Eykmannii n. sp., ein Bakterium, welches für sein Wachstum vitaminartige Stoffe braucht. 81
Doyer, Lucie C., De gezondheidstoestand van klaverzaad in verband met de keuring van dit zaad en de invloed van ontsmetting op dezen toestand. (Der Gesundheitszustand von Kleesamen in bezug auf Prüfung dieser Samen und der Einfluß der Desinfektion auf denselben.) 456
Drayton, F. L., The gladiolus dry rot caused by Sclerotinia gladioli (Massey), n. comb. 456
Duggar, B. M., and **Johnson, B.,** Stomatal infection with the virus of typical tobacco mosaic. 368
Duncan, F. M., Disappearance of Zostera marina. 361
Dutky, S. R., s. **Knaysi, G.**
Dyrenfurth s. **Damm.**

Ebert, B. P. und **Rubel, N. N.,** Zur Serologie von Azotobacter. 272
Ehrenberg, C., Verfahren zur Herstellung eines stickstoffreichen Humusdüngemittels. 282
Emslander, F., Die Wasserstoffionenkonzentration und die Dielektrizitätskonstante beim Bier und bei dessen Bereitung. 87
Engel, Horst, Kritische Bemerkungen zur „Bodenatmung". (Orig.) 158
—, Zur Physiologie der Nitrifikationsorganismen im natürlichen Boden. II. Der Einfluß der Glukose auf die Nitrifikation (Orig.) 385
Esau, K., Pathologic changes in the anatomy of leaves of the sugar beet, Beta vulgaris, affected by the curly top disease. 180
Ezekiel, W. N., and **Taubenhaus, J. J.,** Variety tests in differentiation of two cotton wilts. 458

Fehér, D., Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Temperatur und Wassergehalt des Bodens auf dieLebenserscheinungen der Bodenbakterien. 91
Ferguson, A. J. und **Rahn, O.,** Zum Nachweis mitogenetischer Strahlung durch beschleunigtes Wachstum von Bakterien. 379
Filatowa, A. und **Tobjakina, A.,** Zur Frage der antiseptischen Eigenschaften der pflanzlichen ätherischen Öle. 384
Fink, Erik, s. **Grimmer, W.**
—, **H.,** Studien über Brühhaufenmalze. 447
—, und **Zenger, E.,** Über die Farbstoffe einer roten Hefe. 441
Fink, H. und **Zenger, E.,** Zur Biochemie der Farbstoffe der roten Hefen. 441
Fischer, F., Lieske, R. und **Winzer, K.,** Biologische Gasreaktionen. II. Mitt. Über die Bildung von Essigsäure bei der biologischen Umsetzung von Kohlenoxyd und Kohlensäure mit Wasserstoff zu Methan. 93
—, —, —, Neue Untersuchungen über die biologische Entgiftung von Leuchtgas und über die Gewinnung von technisch verwertbarem Leuchtgas aus Wassergas. I. II. 452
—, **M.,** s. **Kruse, W.**
Folsom, D., Botrytis cinerea as a cause of potato tuber rot. 365
Francke, O., Geschichtliches zur biologischen Säuerung. 86
Franke, W., s. **Gassner, G.**
Freise, F. W., Beobachtungen an im Urwalde vermoderndem Holze. 452
Frey, A., Verfahren zur Herstellung von Zitronensäure durch Vergären von Kohlenhydraten mittels Schimmelpilzen unter Verwendung von Pilzdecken. 270
Frickhinger, H. W., Ein Fortschritt in der Bekämpfung von Getreideschädlingen. 188
Funke, Paul, & Co., Zur Feststellung der Keimzahl geeignetes Rollröhrchen. 437

Galadjieff, M., et **Metalnikov, S.,** L'immortalité de la cellule. Vingt-deux ans de culture d'Infusoires sans conjugaison. 382
Gante, Th., Der Erikenrost. 364
Gassner, G. und **Franke, W.,** Der Stickstoffhaushalt junger Weizenpflanzen in seiner Abhängigkeit von der Mineralsalzernährung. Ein Beitrag zum Problem der Rostresistenz. 460
— und **Hassebrauk, K.,** Der Einfluß der Mineralsalzernährung auf das Anfälligkeitsverhalten der zur Rassenbestimmung von Getreiderosten dienenden Standardsortimente. 460
—, —, Zweijährige Feldversuche über den Einfluß der Düngung auf die Rostanfälligkeit von Getreidepflanzen. 460
— und **Kirchhoff, H.,** Einige vergleichende Versuche über Verschiebungen der Rostresistenz in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand der Getreidepflanzen. 459
Georgi, C. E., and **Wilson, P. W.,** The influence of the tension of oxygen on the respiration of Rhizobia. 83
Gildemeister, E. und **Herzberg, K.,** Bleibt die Phagenbildung bei strengstem Sauerstoffabschluß aus? Bemerkung zu einer Arbeit von C. Hallauer. 351
Gintscheff, P. Z., Schutztrichter für Bunsenbrenner. 172

Glathe, H., and **Cunningham, A.,** The obligate anaerobic microflora of farmyard manure. 90
Godfrey, G. H., and **Hoshino, Helene Morita,** Studies on certain environmental relations of the root-knot nematode, Heterodera radicicola. 372
— und **Oliveira, Jul.,** Die Entwicklung der Wurzelnematoden in Beziehung zum Wurzelgewebe von Ananas und Kuhbohne. (The development of the root-knot nematode to root tissues of pine-apple and cowpea.) 182
Goldin, M., s. **Tauson, W.**
Golding, N. S., The growth of Penicillium roqueforti on synthetic media. 348
Goto, Yukio, and **Kimata, Masao,** Two new species of Bacteria found in spoiled „Kamaboko". (Orig.) 148
Graber, L. F., and **Sprague, V. G.,** Alfalfa Yellows. 184
Gratz, Otto, Versuche zur Verhinderung der Schmelzkäseblähung auf biologischem Wege. 279
Grenz, A., s. **Grimmer, W.**
Grimes, M., The detection of the Escherichia-Aerobacter group in butter. 176
Grimmer, W. und **Fink, Erik,** Beiträge zur Biochemie der Mikroorganismen. 444
— und **Grenz, A.,** Sterilisierung von Brunnenwässern. 355
Gronchi, V., Incitants dissociatifs et propriétés biochimiques du B. coli. 438
Grundmann, E., Beiträge zur Ökologie von Bacillus mycoides (Flügge). (Nach Untersuchungen im Hochgebirge.) 271
Guba, E. F., „Suspected mosaic" of the strawberry. 95
—, Bekämpfung des Wurzelknöllchennematoden in Gewächshäusern mit Schwefelkohlenstoff-Emulsion. (Control of the root-knot nematode in greenhouses with carbon disulphide emulsion.) 186
Guttmann, E., s. **Linden, Gräfin v.**

Hadenfeldt, A., s. **Seelemann, M.**
Hadorn, C., Recherches sur la morphologie, les stades évolutifs et l'hivernage du Bostryche liseré (Xyloterus lineatus Oliv.). 184
Haehn, H., Verfahren zur Gewinnung von Zitronensäure mittels Schimmelpilzen. 438
Hallauer, C., Die übertragbare Lyse als Funktion des bakteriellen Gasstoffwechsels. II. Mitt.: Beeinflußt das übertragbare Lysin den bakteriellen Gasstoffwechsel? III. Mitt.: Lysinbildung durch Oxydation chemisch definierter Stoffe. 346
Hallermann, Ad., Der Umbau einer Schwankhalle nach biologischen Grundsätzen. 179
Hamburg, M., Über das Elmocid-Desinfektionsverfahren und dessen Verwendung in der Brauerei. 88
Hammer, B. W., and **Collins,** The numbers of lipolytic bacteria in various dairy products, as determined with nile-blue sulfate. 278
—, and **Olsen, H. O.,** Studies on a Color Defect in Butter. 84
Hampp, H., Erdflohbekämpfungsversuche bei Hopfen auf dem Hopfenversuchsgut in Hüll 1927—1932. 374
Harding, V. J., and **Nicholson, T. F.,** The Use of some Microorganisms in Sugar Analysis. 173
Harris, M. R., Phytophthora disease of snapdragons. 454
Hase, A., Schäden durch Pflaumensägewespen als Beitrag zur Feststellung der Höhe von Insektenschäden sowie Bemerkungen über Statistik in der angewandten Entomologie. 370
Hassebrauk, K., s. **Gassner, G.**
Haupt, H., Über die Benennung des Streptococcus agalactiae und den Glukosezusatz zur Brownschen Blutplatte. 173
—, s. **Dimitrijević-Speth, V.**
Hayes, H. K., Johnson, I. J., and **Stakman, E. C.,** Reaction of maize seedlings to Gibberella saubinetii. 364
Hazelhoff, E. H., Investigations on the White Top-borer. 184
Helm, A., Der Sellerieschorf, Phoma apiicola Klebahn. 363
Hemmi, T., Experimental studies on the relation of environmental factors to the occurrence and severity of blast disease in rice plants. 288
Hempelmann, Massenhaftes Auftreten des Erbsenblattrandkäfers und seine Bekämpfung. 371
Hendee, E. C., The association of the Termites, Kalotermes minor, Reticulitermes hesperus, and Zootermopsis angusticollis with fungi. 192
Henneberg, W., Bakteriologische Molkereikontrolle. Mikroskopische Bestimmung der für die Milchswirtchaft nützlichen und schädlichen Bakterien-, Hefen- und Schimmelpilzarten. 434
—, s. **Heucke, Ruth.**
Herbst, F. B., Airplane liquid spraying. 286
Hermann, S., s. **Pharm. Werke „Norgine".**
—, **Siegwart** und **Neiger, Richard,** Untersuchungen über die fungizide Wirkung von Salicylsäure und Salicylsäureverbindungen auf Tilletia tritici. (Orig.) 258
Heronimus, E. S., s. **Kritschewski, I. L.**
Herrick, H. T., s. **Lockwood, Lewis B.**
Herrmann, R., Die Bodensäure, ihre Entstehung und Wirkung, ihre Ermittlung und Beseitigung. 434
Herzberg, E., s. **Linden, Gräfin v.**

Herzberg, K., s. **Gildemeister, E.**
Hettche, H. O., Untersuchungen über die Natur der bakteriziden und hämolytischen Bestandteile der Pyocyaneuslipoide. 81
Heucke, Ruth und **Henneberg, W.**, Volutinnachweis in den lebenden Hefezellen durch Neutralrot. (Orig.) 425
Himmelweit, F., Ein neuer Mikromanipulator. 343
Hirsch, J. und **Müller, A. W.**, Zur Bedeutung des Peptons als Nährsubstrat aerober Bakterien. Die Verwertung des Peptons durch Staphylococcus aureus. 79
—, **W.**, Weitere Beiträge zu den Problemen des sogenannten „Bacterium typhi flavum". 438
—, Über spontan hämolysierende Typhusbazillen. 439
Hoder, F. und **Lazarovich-Hrebelianovich, M. v.**, Zur Frage der Entstehung von Bakteriophagen im tierischen Organismus. 174
Hoder, F., Der gegenwärtige Stand der Bakteriophagenforschung. 175
Holloway, T. E., A method of avoiding the destruction of Trichogramma in sugarcane fields. 186
Horne, W. T., s. **Condit, I. J.**
Hoshino, Helene Morita, s. **Godfrey, G. H.**
Hotchkiss, M., s. **Waksman, S. A.**
Howard, A., The Waste Products of Agriculture: Their Utilization as Humus. 283
Hübner s. **Damm.**
Hüttig, C., Bakteriologische Versuche über die Einwirkung von Duwokgärfutter und duwokhaltigem Heu auf die Eignung der Milch für die Weichkäserei. 353
—, **L.**, Die Abhängigkeit der Käseblähung von der „Disposition" der Anlieferungsmilch. 445
Hungerford, C. W., s. **Remsberg, R.**

I. G. Farbenindustrie, A.-G., Verfahren zur Herstellung künstlicher Nährböden. 435
—, Verfahren zur Gewinnung von Substanzen, die geeignet sind, das Wachstum von tierischen Zellen anzuregen und zu erhalten. 436
—, Verfahren zur Gewinnung von das Zellwachstum regelnden Hormonen. 436
Illies, R., Der heutige Stand der Hefeverwertung. 446
Imšenecki, A., Verhalten lebendiger und toter Hefezellen gegenüber Farblösungen. 82
—, Über Mikroorganismen, die ein Verderben von Viskosefabrikaten bewirken. 358
— und **Kriß, A.**, Beiträge zur Kenntnis der Fungi imperfecti. Ein neuer Pilz Mastigomyces Philippovi (nov. gen. nov. sp.), gefunden auf Mirobalanafrüchten (Terminalia chebula). 82
Ingles, L. G., Studies on the structure and life-history of Ostiolum oxyorchis (Ingles) from the California Red-legged Frog Rana aurora draytoni. 189
Isotti, G., Der Endvergärungsgrad ist nicht abhängig von der Hefe, sondern von der Zusammensetzung der Würze. 87
Israilski, W. E., Runow, E. B. und **Bernard, W. N.**, Knöllchenbakterien und Nitragin. 354

Jaczewski, A., Grundrisse der Mykologie. 169
Janensch, J., Biologische Mitteilungen. Beiträge zur Anstellhefenfrage. 86
—, Biologische Mitteilungen. Wilde Hefeinfektion durch Natureisschmelzwasser. 89
—, **Jr.**, Biologische Mitteilungen. Auftreten von Estergeruch im Lagertank in nachgestopftem Hopfen. 179
Jary, S. G., s. **Austin, M. D.**
Jaschke, W., Beiträge zur Kenntnis der symbiontischen Einrichtungen bei Hirudineen und Ixodiden. 381
Jennings, H. S., Raffel, D., Lynch, R. S., and **Sonneborn, T. M.**, The diverse biotypes produced by conjugation within a clone of Paramaecium aurelia. 382
Jensen, H. L., Corynebacteria as an important group of soil microorganisms. 449
—, **J. H.**, Isolation of yellow-mosaic viruses from plants infected with tobacco mosaic. 368
Jochems, S. C. J., Verslag van het Deli-Proefstation over het jaar 1933. (Bericht der Deli-Versuchsanstalt über 1933.) 453
Johnson, B., s. **Duggar, B. M.**
—, **I. J.**, s. **Hayes, H. K.**
Jordan, E. O., Caldwell, M. E., and **Reiter, D.**, Bacterial motility. 344

Kaden, O. F., 1. Observations concerning the healthiness of coffee trees in Costa Rica. 359
—, 1. Beobachtungen über die Hexenbesenkrankheit der Kakaobäume in Trinidad und Surinam. 362
Kämpf, H., Beiträge zur biologischen Säuerung von Maischen und Würzen mit Proteolytmalz. 447
Kaeß, G. und **Schwartz, W.**, Ein Thermostat für Kühlung und Heizung. (Orig.) 336
Kalle & Co., Verfahren zur Herstellung von Heil- und Impfstoffen. 436
Kamat, M. N., Observations on Tolyposporium filiferum, cause of "loungsmut" of sorghum. 365

Kamerman, P., Note on the effect of the type of glass in studying the microflora of the soil by the cholodny technique. 450
Kammann, O., Reinigung von Gerberei- und ähnlichen Abwässern. 357
Kelly, C. D., Controlling ropy milk outbreaks. 84
—, s. **Yale, M. W.**
Kendall, J., s. **Kostoff, D.**
Kendrick, J. B., Seedling stem blight of field beans by Rhizoctonia bataticola at high temperatures. 365
Kent, W. G., A commercial apple-spraying demonstration in 1932. 95
Kießling, L. E., Biologische Maßnahmen zur Unterdrückung des Kartoffelschorfes. 464
Kimata, Masao, s. **Goto, Yukio.**
Kindermann, V., s. **Ruß-Münzer, A.**
Kirby, H., Flagellates of the Genus Trichonympha in Termites. 378
Kirchhoff, H., s. **Gaßner, G.**
Klebahn, H., Über Bau und Konidienbildung bei einigen stromatischen Sphaeropsideen. 287
Klein, H. Z., Zur Biologie der amerikanischen Schabe. 377
Klemm, M., Ernteschäden durch Schwarzrost in Deutschland im Jahre 1932. 360
Klinkowski, M. und **Richter, H.**, Der Stengelbrenner (Anthraknose) der Luzerne, verursacht durch den Pilz Colletotrichum trifolii. 366
Knaysi, G., and **Dutky, S. R.**, The growth of Bacillus megatherium in relation to the oxydation-reduction potential and the oxygen content of the medium. 346
Knoll, M., Bericht über die Maikäferbekämpfung im Werderschen und Glindower Obstbaugebiet im Jahre 1933. 375
—, **W.**, Eine Beobachtung in bezug auf die Ulmenkrankheit. 363
Koch, F. E., Die polysaccharidbildenden Speichelstreptokokken und die Froschlaichstreptokokken der Zuckerfabriken. 345
—, **R.**, Hefewachstum bei Sauerstoffmangel. 86
Kofoid, C. A., and **Mac Lennan, R. F.**, Ciliates from Bos indicus Linn. III. Epidinium Crawby, Epiplastron gen. nov. and Ophryoscolex Stein. 189
—, **McNeil, E.**, and **Bonestell, A.**, Correlation of the distribution of the Protozoa in the intestine of Rattus norvegicus with the hydrogen ion concentration of the intestinal contents and wall. 189
Kolbach, P. und **Naumann, H.**, Bisherige Ergebnisse der biologischen Säuerung von Maischen und Würzen. 177
Koller, Raphael, Das Rattenbuch. Ein Sammelbericht über die wirtschaftliche und hygienische Bedeutung der Rattenplage und über die Bekämpfung der Ratten. 77
Kologriwowa, W., s. **Kulikow, W.**
Korsakowa, M. P., Thiolulphatreduzierung durch Hefe. 274
Kostoff, D., and **Kendall, J.**, Studies on plant tumors and polyploidy produced by bacteria and other agents. 288
Kostyrko, D. S., Herstellung von Produkten der Alkohol- und Milchsäuregärung aus Sojamilch. 280
— und **Marjasch, L. U.**, Die Mikroflora der Soja und ihre Rolle in der Technologie der Sojaprodukte. 279
Krassilnikow, N. A., Die Entwicklungsgeschichte der Bodenmykobakterien. Vorläufige Mitteilung. (Orig.) 428
Krause, W., s. **Rippel, A.**
Kretschmer, K., Sterile Bierfilter. 89
—, Filtrationsarbeiten. 178
Krieg, H., Rotenon, ein neues und zukunftsreiches Insektenbekämpfungsmittel. 360
—, **W.** und **Pflug, H.**, Über einige Methoden zur Prüfung von Holzkonservierungsmitteln. 358
Kriß, A., s. **Imšenecki, A.**
Kritschewski, I. L. und **Heronimus, E. S.**, Über den Pleomorphismus der Bakterien. II. Über die Identität von Pneumo- und Streptokokken. 345
Kruse, W. und **Fischer, M.**, Das neue System der silbernen Antisepsis und Chlordesinfektion. 343
Kühl, H., Die Stärkegewinnung im Sauerverfahren. 280
Küster, E., Hundert Jahre Tradescantia. 78
Kulikow, W., **Alakrinskaja, N.** und **Popowa, A.**, Zuckergärung und Hydrolyse der Kohlenhydrate. 383
— und **Kologriwowa, W.**, Milchsäuregewinnung unmittelbar aus Gerste unter der Wirkung von Bac. Delbrücki. 350
Kuschnarew, M. A., Über gewisse Regelmäßigkeiten der individuellen Variabilität von Bac. mycoides und Bac. mesentericus. 78
—, Die mikrobiologische und biochemische Reinigung des Abflußwassers beim Gerbprozeß durch aktiven Schlamm. 357

Lachmund, H. G., Resistance of the current season's shoots of Pinus monticola to infection by Cronartium ribicola. 366
Langenbuch, R., Sublimat, ein erfolgreiches und wirtschaftliches Bekämpfungsmittel gegen die Kohlfliege im Großanbau. 188
—, s. **Nitsche, G.**
Laubert, R., Eine „schlechte Angewohnheit" der Douglasien. 362
—, Beobachtungen und Fragen über die Biologie des Mahonienrostes. 364

Laubert, R., Ein gefährlicher Tomatenschädling. 364
—, Mehltau und Rhytisma auf Acer negundo. 365
—, Schildlausschäden an Juniperus Pfitzeriana. 370
—, Eine nicht alltägliche Schädigung der Rosen. 371
Lazarovich-Hrebelianovich, M. v., s. **Hoder, F.**
Leeden, R. van der, Entkeimung von Wasser durch Oberflächenwirkung kristalliner Metalle. 94
Lehmann, S. G., Frog-Eye (Cercospora diazu Miura) on stems, pods, and seeds of soybean, and the relation of these infections to recurrence of the disease. 462
Leiss, F., s. **Lüers, H.**
Liebesny, P., Wertheim, H. und **Scholz, H.**, Über Beeinflussung des Wachstums von Mikroorganismen durch Kurzwellenbestrahlung. 190
Lieske, R., s. **Fischer, F.**
Linden, Gräfin v., Herzberg, E. und **Guttmann, E.**, Cuprotect, ein neues reizloses und geruchloses Antiseptikum für Haut und Schleimhaut. 384
Link, G. K. K., Etiological phytopathology. (Ätiologische Pflanzenpathologie.) 285
—, and **Ramsey, G. B.**, Market diseases of fruits and vegetables: Potatoes. 96
—, and **Wilcox, H. W.**, Precipitin-ring test applied to fungi. II. 347
—, s. **Ramsey, G. B.**
Lockwood, Lewis B., Ward, George E., May, O. E., Herrick, H. T., and **O'Neill, Hugh T.**, The Production of Fat by Penicillium javanicum van Beijma. (Orig.) 411
Löhnis, Marie, Randjesziekte bij aalbessen. (Blattranddürre der Johannisbeeren.) 94
Lohmann, G., Nährstoffwirkung und Giftwirkung bei Aspergillus niger. 275
Lüers, H. und **Leiss, F.**, Flüchtige Bukettstoffe der Würzegärung. 446
Lüstner, G., Die Weißfleckenkrankheit der Birnenblätter. 363
Lund, W. T., s. **Zeller, S. M.**
Lynch, R. S., s. **Jennings, H. S.**

Mac Lennan, R. F., s. **Kofoid, C. A.**
Mader, E. O., s. **Blodgett, F. M.**
Mail, G. A., and **Salt, R. W.**, Temperature as a possible limiting factor in the northern spread of the Colorado Potato Beetle. 371
Mains, E. B., Host specialization of Puccinia Sorghi. 459
Makrinoff, I. A., Vermehrung des Azotobacters und Stickstoffanhäufung bei Zersetzung pflanzlicher Überreste. 281
Makrinow, I. A., Die biologische Bearbeitung von Pflanzenresten. (Orig.) 154
Mallanz, A. A., Mikrobiologische Untersuchung des Kaspischen Meerbodens. 168
Malkow, A., Studien über Flockenbildung (Agglutination) der Hefe. II. Mitteilung. (Orig.) 212
—, **A. M.**, Schnelle Autolyse der Hefe als Methode zur Bestimmung ihrer Widerstandsfähigkeit. 174
Marjasch, L. U., s. **Kostyrko, D. S.**
Markowski, S., Die Eingeweidewürmer der Fische des polnischen Baltikums. 377
Matsumoto, H., s. **Nisikado, Y.**
Matthias, P., et **Boulle, L.**, Sur une larve de Chironomide (Diptère) parasite d'un Mollusque. 190
May, O. E., s. **Lockwood, Lewis B.**
McClelland, C. K., s. **Young, V. H.**
McDaniels, L. H., and **Burrell, A. B.**, The effect of sulphur fungicides, applied during the bloom, on the set of apples fruits. 361
Mc. Lean, R., s. **Wolf, F. A.**
McNeil, E., s. **Kofoid, C. A.**
Mehrlich, F. P., Control of Phytophthora heart rot of pineapple plants. 454
Melin, E., Zur Frage des Antagonismus zwischen frei lebenden Mikroorganismen. Untersuchungen an Holzschliff. 82
Metalnikov, S., s. **Galadjieff, M.**
Meurs, A., Parasitic stemburn of Deli tobacco. 461
Meyer-Bahlburg, Energischere Bekämpfung von Maikäfer und Engerling. 376
Meyer-Hermann, K., Neue Wege zur Bekämpfung der Herz- und Trockenfäule der Rüben. 94
Miles, L. E., Control of gladiolus scab. 180
Miller, M., s. **Niklas, H.**
Mischustin, E. N., Die Anpassung der Bodenbakterien an klimatische Temperaturbedingungen. 92
Molz, E., Die Bekämpfung des Rübennematoden mittels des Chlorkalk-Aktivierungsverfahrens. 187
Moore, M H., Spraying experiments on the control of pear scab at East Malling. 96
Moss, E. G., s. **Wolf, F. A.**
Müller, A. W., s. **Hirsch, J.**
—, **W.**, Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. III. Mitt. Über die Pilzsymbiose holzfressender Insektenlarven. 381
Murphy, A., s. **Walker, J. C.**

Narasimhan, M. J., Black rot of coffee in Mysore. 363
Naumann, Einar, Über das Verhalten des Sphaerotilus-Aufwuchses in schwefelwasserstoffhaltigem Wasser. (Orig.) 130
—, **H.**, s. **Kolbach, P.**
Neiger, Richard, s. **Hermann, Siegwart.**
Nicholson, T. F., s. **Harding, V. J.**

Niklas, H. und **Miller, M.**, Zur Frage der Zählung von Bodenbakterien. (Orig.) 127
Niklewski, B., Über die Verbreitung der Nitrifikationsbakterien in verschiedenen Stallmistsorten. (Orig.) 193
Nikolskaja, M. N., The Clover Seed Chalcid (Bruchophagus gibbus Boh.) in Alfalfa seeds in U.S.S.R. 370
Nisikado, Y., and **Matsumoto, H.**, II. Temperature relations to the growth of the rice-„Bakanae" fungus. 458
—, —, and **Yamauti, K.**, Reports on the physiological specialization of Fusarium. I. On the differenciation of the pathogenecity among the strains of rice-„Bakanae" fungus. 457
Nitsche, G. und **Langenbuch, R.**, Der Kohltriebrüßler (Ceutorrhynchus quadridens Panz.) als Großschädling im Kohlanbau. 370
Norgine s. **Pharm. Werke.**
Nowogrudsky, D. M., Über Stickstoffprodukte in Azotobakterkulturen und das gegenseitige Verhältnis von Azotobakter und anderen Bodenmikroben. 272

Oldham, J. N., On Howardula phyllotretae n. sp., a Nematode parasite of Flea Beetles (Chrysomelidae; Coleoptera) with some observations on its incidence. 377
Oliveira, Jul., s. **Godfrey, G. H.**
Olsen, H. O., s. **Hammer, B. W.**
O'Neill, Hugh T., s. **Lockwood, Lewis B.**
Oortwijn Botjes, J. G., Verzwakking van het Virus der Topnecrose en verworven Immuniteit van Aardappelrassen ten opzichte van dit Virus. (Abschwächung des „Topnecrose" Virus und erworbene Immunität von Kartoffelsorten in bezug auf dieses Virus.) 368
Oppenheimer, C., Chemische Grundlagen der Lebensvorgänge. Eine Einführung in biologische Lehrbücher. 171
Osterwalder, A., Von Kaltgärhefen und Kaltgärung. (Orig.) 226
—, Die Blaufleckigkeit unreifer Traubenbeeren. 362
Otani, Y., Vergleichende Studien über die Gattung Mucor. II. Mitteilung: Über die Temperaturverhältnisse. 274

Palmiter, D. H., Variability in monoconidial cultures of Venturia inaequalis. 455
Panning, A., s. **Peters, N.**
Pape, H. und **Rademacher**, Findet der Übergang des Mehltaues auf Sommergerste allgemein statt. 286
Payne, N., The differential effect of environmental factors upon Microbracon hebetor Say (Hymenoptera: Braconidae) and its host Ephestia kühniella Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). I. 378
Pels Leusden, F., Rücklaufsicheres, gefahrloses Pipettieren. Neue Apparatur. 343
Penschuck, M., Verfahren zur Reinigung von Abwasser oder Oberflächenwasser. 357
Peretz, L. H. und **Slawsky, E. M.**, Die Bedeutung der normalen Mikroflora für den Organismus. Bacterium coli als Immunitätsfaktor. 379
Peters, N. und **Panning, A.**, Die Chinesische Wollhandkrabbe (Eriocheir sinensis H. Milne-Edwards) in Deutschland. 383
Pfarrius, G., Verfahren zur Herstellung eines Mittels zum Fördern des Pflanzenwuchses. 282
Pflug, H., s. **Krieg, W.**
Pharm. Werke „Norgine" und **Hermann, S.**, Verfahren zur Herstellung von therapeutisch wirksamen Präparaten. 435
Philippow, G. S., Einfluß der Besäungsdichte auf die Entwicklung von Phycomyces nitens bei Bestrahlung mit Röntgen- und ultravioletten Strahlen. 276
Pickles, A., Entomological contributions to the study of the Sugarcane-Froghopper. 378
Piratzky, W., Über die Beziehungen zwischen Zuckergehalt und Vergärung. III. Die Änderung des Zuckergehalts im Laufe der Gärung. 177
Pochon, M. J., Influence du milieu de culture sur les proprietés biologiques d'une bactérie cellolytique de la panse du boeuf. 440
Popig, Werner, Untersuchung der Handelsmilch einer mitteldeutschen Großstadt auf Keimgehalt und Haltbarkeit. 441
Popowa, A., s. **Kulikow, W.**
Porchet, B., s. **Staehelin, M.**
Potter, M. C., Soil Micro-organisms; their influence upon the Potential Difference between the Plant and the Soil. (Orig.) 255
Price, W. C., The thermal death rate of tobacco mosaic virus. 181
Prouty, C. C., Further studies of the effect of pasteurization on the bacterial flora of low count milk. 352
—, A comparison of the leucocyte count, the brom thymol blue reaction and the catalase content of freshly drawn milk. 352
Prüß, M., s. **Blunk, H.**

Quanjer, H. M., Über eine komplexe Viruskrankheit des Tabaks. 367

Rademacher, B. und **Schmidt, O.**, Die bisherigen Erfahrungen in der Bekämpfung des Rübennematoden (Heterodera schachti Schm.) auf dem Wege der Reizbeeinflussung. 187

Rademacher, s. **Pape, H.**
Raffel, D., s. **Jennings, H. S.**
Rahn, O., s. **Barnes, M. N.**
—, s. **Ferguson, A. J.**
—, s. **Tuthill, J. B.**
Ramsey, G. B., and **Link, G. K. K.**, Market diseases of fruits and vegetables: Tomatoes, Peppers, Eggplants. 179
—, s. **Link, G. K. K.**
Rasin, K., Coelomyces Chironomi n. sp., ein parasitischer Pilz aus der Leibeshöhle der Chironomus-Larven. I. Teil: Äußere Form und Biologie. 376
Rasumow, A., Neue Methoden und Wege für die qualitative und quantitative Untersuchung der Mikroflora des Wassers. 451
—, **A. S.**, Microcoleus chtonoplastes und die Möglichkeit seiner Anwendung bei Seesalzgewinnung. 358
Rasumowskaja, S. G., Über die Knöllchenbakterien des Cicer. (Orig.) 330
Reimesch, Erwin, Die Bedeutung der Hefeverteilung im Nährmedium für den Gärungsverlauf. (Orig.) 218
Reinking, Otto A., Parasitic and other Fusaria counted in Costa Rica and Panama soils. (Orig.) 4
Reiter, D., s. **Jordan, E. O.**
Remsberg, R., and **Hungerford, C. W.**, Certain Sclerotium diseases of grains and grasses. 366
Reydon, G. A., Droge en natte Kollot op de Tabaksbedden. (Rhizoctonia und Phytophthora auf den Tabakbeeten.) 454
Richter s. **Damm.**
—, **H.**, s. **Klinkowski, M.**
—, s. **Wollenweber, H. W.**
—, **K.**, Untersuchungen über den Einfluß von Lithiumchlorid auf Bacterium coli. I. Mitteilung: Morphologische Veränderungen. (Orig.) 134
Riddet, W., s. **Whitehead, H. R.**
Ries, E., s. **Aschner, M.**
Rippel, A. und **Krause, W.**, Lassen sich Beziehungen zwischen Kohlenhydratbildung und Knöllchen bei Leguminosen feststellen? 380
— und **Witter, P.**, Untersuchungen an Actinomyceten. 81
—, **K.**, Untersuchungen über die Abhängigkeit der Sporenkeimung vom Wassergehalt der Luft bei Cladosporium fulvum Cooke und anderen Pilzen. 84
Ritter, W., Die Herkunft von Acetoin und Diacetyl in Magenlab und anderen Käserei-Rohkulturen. 445
Rokitzkaja, A. I., Biologische Phasen des im Erdboden Zellulose zersetzenden Mikroben Spirochaeta cytophaga und seine Verbreitung im Boden der Ukraine. 91
Rosen, H. R., Influence of spray applications on air temperatures surrounding sprayed potato plants. 360
Rountree, Phyllis M., The bacteriological Oxidation of Sulphur in an Australian Soil. 449
Rubel, N. N., s. **Ebert, B. P.**
Rudakow, K. J., Über den Entwicklungszyklus der Milchsäurebakterien. (Orig.) 67
Rühberg, W., Über eine Hefeinfektion bei Daphnia magna. 189
Runow, E. B., s. **Israilski, W. E.**
—, **E. W.**, Die milchsaure Gärung bei Temperaturen unter der minimalen Entwicklungstemperatur der Milchsäurebakterien. (Orig.) 17
Ruß-Münzer, A. und **Kindermann, V.**, Zum Nachweis phageninfizierter Stämme. 174

Salt, R. W., s. **Mail, G. A.**
Sandhoff, H., Chemisch-physikalische Untersuchungen an Ligninen und deren Bedeutung als Boden- und Pflanzendünger. 451
Sangiorgi, G., Dissociation microbienne par les émanations du radium. 438
Sarkaria, R. S., Berseem Inoculation Experiments in the Punjab. 354
Sasaki, S., Anaerobe Bakterien im Boden. 355
Sassuchin, D., Zum Studium der Parasiten vom Typus Protozoa bei Pflanzen des Südwestens RSFSR. 182
Sauer, F., s. **Demeter, K. J.**
—, **H.**, s. **Demeter, K. J.**
Sawin, A. K., Über den Aktivator der milchsauren Gärung. 273
Schaafsmann, I. N. D. R., Die Reinigung von Wasser mittels Aktiv-Kohlen. 356
Schaede, Über das Wachstum des sogenannten Bacterium typhi flavum in Blut und Galle. 80
Scheffer, E., Maßnahmen zur Erhaltung und Förderung der Bodenfruchtbarkeit. 450
Schlesinger, M., Beobachtung und Zählung von Bakteriophagenteilchen im Dunkelfeld. — Die Form der Teilchen. 174
Schmidt-Lange, Bakteriologische Schnelluntersuchung von Wasserproben. 269
Schmidt, O., s. **Rademacher, B.**
—, **W.**, Verfahren zur Reinzüchtung von im Menschen- und Tierkörper parasitisch vegetierenden Kleinlebewesen und zur Gewinnung von besonders wirksamen Kulturen gegen Geschwülste aller Art. 437
Scholz, H., s. **Liebesny, P.**
Schreiber, F., Resistenzzüchtung bei Buschbohnen. 461
Schuster, K. F., Über hoch- und niedervergärende Heferassen. 85
Schwalbe, C. G., Futterstoff aus Holz. 448
Schwartz, W., s. **Kaeß, G.**
Seelemann, M. und **Hadenfeldt, A.**, Er-

gebnisse mehrjähriger Sanierungsmaßnahmen in galtverseuchten Milchviehbeständen der Provinz Schleswig-Holstein. 277
Semenow, A. E., On the control of Bytyrus tomentosus F. 375
Shands, H. L., Temperature studies on stripe of barley. 455
Shrikhande, J. G., The Production of Mucus during the Decomposition of Plant Materials. II. The Effect of Changes in the Flora. 90
—, The Production of Mucus during the Decomposition of Plant Materials. I. The Effect of Environmental Conditions. 90
Silbereisen, K., s. **Stockhausen, F.**
s'Jacob, J. C., Een nieuwe bibitziekte in de Besoeki-Tabak. (Eine neue Keimlingskrankheit im Besoeki-Tabak.) 463
Skinner, C. E., and **Brown, J. W.**, The failure of Bacterium coli from human feces to grow at 46° in the Eijkman or the Bulir tests. 346
Skorodumow, L. N., Kultur und Kolonien der Mikroorganismen. 268
Slawsky, E. M., s. **Peretz, L. H.**
Smith, G. M., and **Trost, J. F.**, Diplodia ear rot in inbred and hybrid strains of sweet corn. 456
Sobernheim, G., Die Wandlungsfähigkeit der Bakterien mit besonderer Berücksichtigung des Bact. typhi flavum. 80
Sommer, H., Kalimangel und Sellerie-Blattfleckenkrankheit. 363
—, Rostkrankheit an Bartnelken. 364
Sonneborn, T. M., s. **Jennings, H. S.**
Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 1. Bd. Die nichtparasitären und Viruskrankheiten. 1. Teil. 6. Aufl. 170
Sorokina, A. W. und **Tjagni-Rjadno, M. G.**, Zur Frage der Bedeutung der Mikroorganismen bei der Humusbildung. 353
Sotschilowa, A., s. **Barssow, K.**
Sprague, R., A physiologic form of Septoria tritici on oats. 456
—, **V. G.**, s. **Graber, L. F.**
Staehelin, M. und **Porchet, B.**, Contribution à l'étude de la désinfection partielle du sol en culture maraîchère et horticole. 283
Stahel, G., Zur Kenntnis der Siebröhrenkrankheit (Phloëmnekrose) des Kaffeebaumes in Surinam. III. 181
Stakman, E. C., s. **Hayes, H. K.**
Stammer, H. J., Neue Symbiosen bei Coleopteren. 192
Staniland, L. N., The treatment of Narcissus bulbs with hot water. 182
Stapp, C., Eine Bakteriose an Chrysanthemen. (Orig.) 320
— und **Bortels, H.**, Mikrobiologische Untersuchungen über die Zersetzung von Waldstreu. I. Mitteilung. (Orig.) 28
Stauber, Das Wesen der Kaltsterilisation. 447
Steiner, G. und **Buhrer, E. M.**, Die braunen Ringsymptome bei Narzissen, die von Nematoden befallen sind, sind nicht spezifisch. 183
—, —, **Edna M.**, The bulbous Irises as Hosts of Tylenchus dipsaci, the Bulb or Stem Nema. 371
Stepanowa, M. L., Bakterienzahl im Dünger bei verschiedener Aufbewahrung desselben. 280
Stephenson, M., and **Stickland, L. H.**, Hydrogenase: III. The Bacterial Formation of Methane by the Reduction of One-Carbon Compounds by Molecular Hydrogen. 350
Stevens, N. E., Some significant estimates of losses from plant diseases in the United States. 285
Stickland, L. H., s. **Stephenson, M.**
Stockhausen, F. und **Silbereisen, K.**, Über Flockung und Bruch verursachende Stoffe aus Brauereihefen. 177
Stoll, Karl, Untersuchungen über die koprophilen Pilze unserer Haustiere. (Orig.) 97
Stukart, P., s. **Bosurgi, G.**
Sublew, W., Der augenblickliche Stand der Drahtwurmbekämpfung. 373
Sulmann, F., Variationen bei Bakterien. 345
Svartz, A., Über das Vorkommen von Klostridien bildenden Bakterien, besonders Clostridium butyricum jodophilum, im Darm. 80

Taubenhaus, J. J., s. **Ezekiel, W. N.**
Tauson, W., **Wesselow, I.**, **Aleschina, W.** und **Goldin, M.**, Über die anaerobe Mikroflora des vulkanischen Schlammes. 451
Tausson, W. O. und **Tausson, T. A.**, Energieverwandlung durch Mikroorganismen. II. Energieverhältnisse bei Paraffin- und Wachs-Oxydierung durch Schimmelpilze. 347
—, **T. A.**, s. **Tausson, W. O.**
Tebjakina, A., s. **Filatowa, A.**
Thiem, H., Beitrag zur Epidemiologie und Bekämpfung der Kirschfruchtfliege (Rhagoletis cerasi L.). 375
Thomas, H. E., Studies on Armillaria mellea (Vahl.) Quel., infection, parasitism, and host resistance. 457
Thompson, F. M., and **Worthley, H. N.**, Field studies with pine oils as destroyer of overwintering Codling Moth larvae. 374
Tjagni-Rjadno, M. G., s. **Sorokina, A. W.**
Tokin, B. P., Neues Material über den Einfluß der Ätheröle auf die Sprossung der Hefe Nadsonia fulvescens und auf die Entwicklung der Eier von Mollusca Physa fontinalis L. 275

Tomoda, Y., Cellulosegärung durch thermophile Bakterien. 439
Toumannoff, C., Action des champignons entomophytes sur la pyrale du maïs. 188
Trost, J. F., s. **Smith, G. M.**
Trumbower, J. A., Control elm leaf spot in nurseries. 463
Tuthill, J. B. und **Rahn, O.**, Zum Nachweis mitogenetischer Strahlung durch Hefesprossung. 379
Tyagny-Ryadno, M., The relations of Bacillus mycoides with ammonification, nitrification, and soil fertility. 93

Varga, Lajos, Nährflüssigkeiten zur Züchtung der Protozoenfauna des Bodens. (Orig.) 249
Vaughan, E. K., Transmission of the crinkle disease of strawberry. 180
Vecht, I. van der, De Groote Peperwants of Semoenjoeng. (Dasynus piperis China.) 185
Verhave, Th. H., Verfahren zur Herstellung von Acetylmethylcarbinol. 269
—, Verfahren zur Herstellung von 2,3-Butylenglykol aus Kohlehydraten durch Vergärung. 269

Waksman, S. A., Hotchkiss, M., and **Carey, C. L.**, Marine bacteria and their rôle in the cycle of life in the sea. II. Bacteria concerned in the cycle of nitrogen in the sea. 284
Walker, J. C., Production of cabbage seed free from Phoma lingam and Bacterium campestre. 464
—, and **Murphy, A.**, Onion bulb decay caused by Aspergillus alliaceus. 455
—, **M. N.**, Occurrence of watermelon mosaic. 180
Wallner, J., Beitrag zur Kenntnis der Vaucheriatuffe. (Orig.) 150
Ward, George E., s. **Lockwood, Lewis B.**
Weber, Er., Ein neues praktisches Gerät zur Prüfung von Druckluft auf ihre biologische Beschaffenheit. 448
Webster, R. L., Insect tolerance. 372
Wehrmann, F., Winke zur zweckmäßigen Anwendung des Elmocidverfahrens und zur Kontrolle der Elmocidlösungen. 448
Weidenhagen, R., Die enzymatische Spaltung des Rohrzuckers und seiner Derivate. 349
Wenzl, Hans, Zur Methodik der Keimzahlbestimmung von Azotobacter im Boden. (Orig.) 289
Werneck, H. L., Die Maulwurfsgrille (Gryllotalpa vulgaris Latr.) und ihre wirtschaftliche Bedeutung für Oberösterreich. 185
Wertheim, H., s. **Liebesny, P.**
Wesselow, I., s. **Tauson, W.**
West, E., Powdery mildew of crape myrtle caused by Erysiphe lagerstroemiae n. sp. 179
Wetzel, A., Über die Zucht von Amoeba proteus. 348
Whitehead, H. R. und **Riddet, W.**, Slow development of acidity in cheese manufacture. Investigation of a typical case of „non-acid" milk. 445
Wiesmann, R., Untersuchungen über die Lebensgeschichte und Bekämpfung der Kirschfliege Rhagoletis cerasi Linné. I. Mitteilung. 185
Wilcox, H. W., s. **Link, G. K. K.**
Wiley, W. J., Wood Taint in Butter: Laboratory Experiments with Special Reference to Pinus radiata (insignis) and Hoop Pine (Araucaria cunninghamii). 176
Wilson, P. W., s. **Georgi, C. E.**
Winzer, K., s. **Fischer, F.**
Witter, P., s. **Rippel, A.**
Wolf, F. A., Roguing as a means of control of tobacco mosaic. 181
— und **Moss, E. G.**, Effect of mosaic of flue cured tobacco on yield and quality. 181
—, **Dixon, L. F., Mc. Lean, R.**, and **Darkis, F. R.**, Downy mildew of tobacco. 454
Wollenweber, H. W. und **Richter, H.**, Melanogone, eine neue Gattung der Dematiaceen. (Orig.) 74
Woroschilowa, A., s. **Dianowa, E.**
Worthley, H. N., s. **Thompson, F. M.**

Yale, K. W., The Escherichia-Aerobacter Group of Bacteria in Dairy Products. 85
—, **M. W.**, and **Kelly, C. D.**, Thermophilic bacteria in milk pasteurized by the high-temperature, short-time process. 175
Yamauti, K., s. **Nisikado, Y.**
Young, P. A., Fungi and bacteria as indicators of the effects of petroleum oils on apple leaves. 453
—, **V. H.**, and **McClelland, C. K.**, Control of oat smut. 287

Zavagli, Vittorio, Zum Vorkommen und zur Bedeutung der Coli-aerogenes-Keime in der Milch. 277
Zeller, S. M. und **Lund, W. T.**, Yellow rust of rubus. 462
Zenger, E., s. **Fink, H.**
Zolk, K., Rentabilität der Obstbaumbespritzungen in Estland. 286

II. Namen- und Sachverzeichnis.

(Stichworte, die auf Originalarbeiten hinweisen, sind durch ein * gekennzeichnet.)

Abwasser, biologische Reinigung. 356, 357
—, Gerberei-, Mikroorganismengehalt, biologische Reinigung. 357
Acanthocephalen, Eingeweidewürmer der Fische, Fauna des Baltikums. 377
Acer negundo, Befall durch Mehltau und Rhytisma acerinum. 365
Acetoin, Vorkommen in Magenlabkulturen, Bildung durch Bakterien. 445
Aceton, Herstellung, Gewinnung der Gärgase. 269
Acetylmethylcarbinol, Herstellungsverfahren. 269
Acocanthera-Arten, Pfeilgiftpflanzen in Deutsch-Ostafrika. 384
Actinomyces-Arten, Kartoffelschorf, antagonistisch wirkende Bakterien. 464
Aerobacter, Nachweis in Butter. 176
— - Arten, Bestimmungsmethoden, Vorkommen in Molkereiprodukten. 85
— aerogenes, Erreger schleimiger Milch, Bekämpfung. 84
— —, Herstellung von Butylenglykol aus Kohlehydraten. 269
*Agaricineen, Vorkommen in Haustiermist. 109
Agarmembranfilter, Trennung von Bakterienarten. 343
Agarnährboden, Einfluß von Zusätzen auf Festigkeit. 344
*Agglutination der Hefe. 212
Agrilus chrysodores f. obtusus, Zweiganschwellungen an Rosa rugosa. 371
Agrostis - Arten, Schneeschimmelbefall (Fusarium nivale), Bekämpfung. 458
Ahorn s. a. Acer.
Aktinomyceten, Untersuchungen an. 81
*—, Vergleich mit Mykobakterien des Bodens. 428
Aktivator der milchsauren Gärung. 273
Algen, Anwendungsmöglichkeit bei Seesalzgewinnung. 358
—, Brauchbarkeit für Alkoholgewinnung und Hefezüchtung. 89
Alkohol, Gewinnungsmöglichkeit aus Algen. 89
Allanthophoma, neue Arten. 287
Amoeba proteus, künstliche Zucht, Kulturmedium. 348
*Amöben, Fauna des Bodens, Nährmedien zur Züchtung. 250
Anagrus urichi, Eiparasit von Tomaspis postica. 378
Ananas, Herzfäule, Phytophthora-Arten, Bekämpfung. 454
—, Nematodenbefall und Wurzelentwicklung. 182
Andropogon, Rost (Puccinia Andropogonis). 459
Anguillulina dipsaci, Heißwasserbehandlung von Narzissenzwiebeln. 182
Anobiiden, Pilzsymbionten in Larven. 381
Anobium striatum, Pilzsymbionten in Larven. 381
Anomatheca cruenta, Trockenfäule durch Sclerotinia gladioli. 456
Anstellhefe, Kontrolle. 86
Antagonismus von Bakterien und Pilzen. 464
— — frei lebenden Mikroorganismen. 82
Antirrhinum, Welke, Phytophthora-Art. 454
Apfel, Fusicladium - Bekämpfungsversuche. 95
—, Obstmadenbekämpfung durch Rindenbehandlung mit Teeröldestillaten. 375
—, Schorf (Venturia inaequalis), Infektionsversuche in U.S.A. 455
—, Schorfbekämpfung mit Schwefelkalkbrühe. 453
—, Stippflecken, Bekämpfungsmöglichkeit. 362
—, Verminderung des Fruchtansatzes bei Blütenspritzung mit Schwefel. 361
Apfelwickler, Gewöhnung an Gifte. 372
Aphelenchoides - Arten an Narzissen, Ringsymptome. 183
Aphelenchus avenae an Narzissen, Ringsymptome. 183
Aphis gossypii, Überträger des Wassermelonenmosaiks? 181
Argas, symbiontische Einrichtungen. 382
Armillaria mellea, Parasitismus, Infektionsvorgang, Wirtsresistenz. 457
Asclepias, Wirtspflanze für Wassermelonenmosaik. 181
*Ascobolus-Arten, Vorkommen in Haustiermist. 109
*Ascomyceten, Vorkommen in Haustiermist. 109
*Ascophanus-Arten, Vorkommen in Haustiermist. 109
Aspergillus, Paraffin- und Wachsoxydierung, Energieverhältnisse. 348
— - Arten, Vorkommen an Weizenkörnern, CO_2-Einfluß. 440
— alliaceus, Zwiebelfäule an Knoblauch. 455
— flavus, Infektion von Maiszünslerraupen im Laboratorium. 188
— fumigatus, Wachstum bei höheren Temperaturen im Boden. 91
— niger, Gift- und Nährstoffwirkungen. 275
— —, Zitronensäurebildung, Herstellungsverfahren. 270
— ochraceus, Wachstum bei höheren Temperaturen im Boden. 91
Azotobacter, Gehalt der Böden Italiens. 282

*—, Keimzahlbestimmung im Boden, Methodik. 289
—, Stickstoffassimilation, Zwischenproduktnachweis. 272
—, Stickstoffbindung und Vorkommen im Meere. 284
—, Verbreitung im Boden des Kaspischen Meeres. 169
*—, Vermehrung bei aerober Torfzersetzung. 154
—, — in verrottendem Stroh. 281
— - Arten, Serologie. 272
*— chroococcum, Stickstoffbindung im Boden, Einfluß von Glukose. 386

Bacillus amylobacter, Käseblähung, biologische Bekämpfungsversuche. 279
— —, vergleichende Untersuchungen. 80
— bifermentans, Vorkommen in Stalldünger und Edelmist. 90
— brevis, Bodenbewohner, Hitzeresistenz. 91
— cellulosae, Zellulosezersetzung im Boden des Kaspischen Meeres. 169
— ferrugineus, Milchsäurebildung bei Holzzersetzung. 452
— —, Zellulosezersetzung im Boden des Kaspischen Meeres. 169
— lobatus, Bodenbewohner, Hitzeresistenz. 91
— mesentericus, Variabilität, Regelmäßigkeit der individuellen —. 78
— —, Zwischenproduktnachweis bei Azotobacter-Stickstoffbindung. 272
— mycoides, Einfluß auf Nitrifikation und Bodenfruchtbarkeit. 93
— —, Milchsäurebildung bei Holzzersetzung. 452
— —, Ökologie. 271
— —, Variabilität, Regelmäßigkeit der individuellen —. 78
— —, Zwischenproduktnachweis bei Azotobacter-Stickstoffbindung. 272
*— orpheus, krankheitserregende Wirkung bei Bienenbrut. 1
— panis, Bodenbewohner, Hitzeresistenz 91
— parvus, Bodenbewohner, Hitzeresistenz. 91
— prodigiosus, Dissoziation. 438
— putrificus, Vorkommen in Rinderfaeces. 444
— radiobacter, Verbreitung im Boden des Kaspischen Meeres. 169
— ruminatus, Bodenbewohner, Hitzeresistenz. 91
— saccharobutyricus, Vorkommen in Stalldünger und Edelmist. 90
— silvaticus, Bodenbewohner, Hitzeresistenz. 91
— sporogenes, Vorkommen in Stalldünger und Edelmist. 90
— subtilis, Sporenbildung, Begünstigung durch Seewassernährböden. 356

Bacillus subtilis, Zwischenproduktnachweis bei Azotobacter-Stickstoffbindung. 272
— tetanomorphus, Vorkommen in Stalldünger und Edelmist. 90
— tertius, Vorkommen in Stalldünger und Edelmist. 90
— thermophilus, Milchsäurebildung bei Holzzersetzung. 452
Bacterium aerogenes, Gehalt der Milch, Bedeutung. 277
— amylobacter, Vorkommen in Rinderfaeces. 444
*— bulgaricum, Kumys-Bereitung. 18
— —, Stärkegewinnung im Sauerverfahren. 280
— campestre, Nichtbefall von Kohlsamen, Ursachen. 464
*— casei, Entwicklungszyklus. 67
*— —, Gärungsaktivität. 21
— coli, Abscheidung von Hormonen, Gewinnungsverfahren. 436
— —, Darmflora als Immunitätsfaktor. 379
— —, Dissoziation. 438
*— —, Einfluß von Lithiumchlorid. 134
— —, Flora von Rinderfaeces. 444
— —, Gehalt der Milch, Bedeutung. 277
— —, Keimzahlbestimmung durch Membranfilter. 173
— —, — in Wasser. 451
— —, Nachweis in menschlichen Fäzes. 346
— —, — mitogenetischer Strahlung. 379
— —, Tötung durch ätherische Öle. 384
— — commune, Wandlungsfähigkeit. 81
— Delbrücki, biologische Säuerung, Geschichtliches. 86
— —, — — von Maische und Würze. 177
— —, Milchsäuregewinnung aus Gerste. 350
— —, Milchsäuregewinnung aus Hausmüll. 270
— gluconicum, Beschreibung, Glukonsäurebildung. 435
— lactis acidi, Säuerung von Sojamilch. 280
— marginatum, Schorf an Gladiolus, Bekämpfung. 180
— paracoli, Vorkommen in Gerbereiabwässern. 357
— pestis astaci, Bekämpfung der Wollhandkrabbe. 383
— proteus, Tötung durch ätherische Öle. 384
— punctulans, Diagnose, Tomaten-Flekkenkrankheit. 367
— pyocyaneus, Lipoiduntersuchungen. 81
— tumefaciens, Schädigung von Obstbäumen, Himbeeren und Schwarzwurzeln. 367

Bacterium tumefaciens, Tumorenbildung, Polyploidie. 288
— typhi, Darmflora als Immunitätsfaktor. 379
— — flavum, Untersuchungen. 438
— — —, Wachstum in Blut und Galle. 80
— — —, Wandlungsfähigkeit, Umwandlung in Typhusbakterien. 80
— vulgare, Abscheidung von Hormonen, Gewinnungsverfahren. 436
Bakanae-Pilz, physiologische Spezialisierung, Infektion von Mais, Temperaturansprüche. 458
Bakterien, Abscheidung von Hormonen, Gewinnungsverfahren. 436
—, aerobe, Ausnutzbarkeit des Peptons. 79
—, anaerobe, in Stalldünger und Edelmist. 90
—, —, Keimgehalt japanischer Böden. 355
—, —, Methanbildung. 350
—, Antagonismus zu Actinomyces-Arten, Kartoffelschorfbekämpfung. 464
—, Beeinflussung durch Kurzwellenbestrahlung. 190
*—, Beschreibung neuer Arten. 148
—, Beta-, Flora von Rinderfaeces. 444
—, —, Bildung von Acetoin und Diacetyl in Magenlabkulturen. 446
—, Beweglichkeit, Bedeutung für Systematik. 344
—, Bildung von Acetoin und Diacetyl in Magenlabkulturen. 445
—, Boden-, Anpassung an klimatische Temperaturbedingungen. 92
*—, —, Keimzahlbestimmung. 127
—, Buttersäure-, Flora von Rinderfaeces. 444
—, Coli-aerogenes-, in Milch, Beiträge zur Kenntnis. 351
—, Coryne-, Humuszersetzung im Boden. 449
—, denitrifizierende, Beschreibung, Vorkommen im Kaspischen Meer. 169
—, Diphtherie-, Kultur in Kohlensäuregas. 439
—, Einfluß des Redoxpotentials der Nährlösung. 347
*—, — von Lithiumchlorid. 134
—, — — Meer- und Süßwasser. 356
—, Eisen-, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 168
—, fettspaltende, Keimzahlbestimmung in Milch und Butter. 278
—, Flora der Milch, Einfluß der Pasteurisierung. 352
—, — — Sojabohne, Bedeutung für technische Verwertung. 279
—, — des vulkanischen Schlamms. 451
—, — — Wassers, Untersuchungsmethode. 451
Bakterien, Flora des Weizenkorns, CO_2-Einfluß. 440
—, Gehalt des Düngers bei verschiedener Aufbewahrung. 280
—, Gluconsäurebildung, Herstellungsverfahren. 271
—, Keimzahlbestimmung in Wasser, schnelle. 269
—, klostridienbildende, Vorkommen im Darm. 80
—, Knöllchen-, Einfluß auf Kohlehydratbildung. 380
—, —, monographische Bearbeitung. 354
—, —, physiologische Untersuchungen. 83
*—, —, spezifische, an Cicer. 330
—, —, von Trifolium alexandrinum, Fehlen im Boden, Impfung. 354
—, —, — Vigna sinensis und Crotalaria-Arten, Untersuchungen. 439
—, Koryne-, Kultur in Kohlensäuregas. 439
—, Lysinbildung. 346
—, Mikro-, Flora von Rinderfaeces. 444
*—, Milchsäure-, Entwicklungszyklus. 67
*—, —, Gärung unterhalb des Temperaturminimums. 17
—, Milchsäurebildung bei Holzzersetzung im Urwald. 452
—, milchwirtschaftlich wichtige, in Rinderfaeces. 443
—, — —, mikroskopische Bestimmung. 434
*—, Myko-, des Bodens, Entwicklungsgeschichte. 428
*—, nitrifizierende, in verschiedenen Stallmistsorten. 193
—, Pleomorphismus. 345
—, Propionsäure-, Flora von Rinderfaeces. 444
—, Purpur-, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 168
—, Schwefel-, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 168
—, Schwefeloxydation im Boden. 449
—, stickstoffbindende, im Meere. 284
—, Strepto-, Flora von Rinderfaeces. 444
—, Sulfate reduzierende, in vulkanischem Schlamm. 451
—, Symbionten der Hirudineen und Ixodiden. 381
—, — — Käfer. 191, 192
—, — — Kleiderläuse. 191
—, thermophile, in Milch bei Pasteurisierung durch Kurzzeiterhitzer. 175
—, —, Zellulosegärung. 439
—, Tötung durch ätherische Öle. 384
—, Trennung von Arten durch Agarmembranfilter. 343
—, Typhus-, Hämolysebefähigung. 439
—, Variabilität, Auftreten von Modifikationen und Saltanten. 78, 79, 80
—, Variationen. 345

*Bakterien, Volutinnachweis in lebenden Zellen. 426
—, zellulosezersetzende, in Rinderpansen 440
*—, —, — Waldstreu. 41
—, —, thermophile. 439
Bakteriologische Herstellung von Heil- und Impfstoffen. 436
— Molkereikontrolle. 434
*— Untersuchungen, Ultrafilter, Herstellung, Anwendungsmöglichkeiten. 398
Bakteriophagen, Beobachtung, Nachweis, Zählung. 174
—, Entstehung im tierischen Organismus. 174
— für Cl. tetani. 351
—, Sauerstoffwirkung. 351
—, Stand der Forschung. 175
Bartnelken, Rost, Puccinia arenariae, Bekämpfung. 364
Baumwolle, Fusarium- und Waxahachie-Welke, unterschiedliche Sortenanfälligkeit. 458
Beauveria bassiana, Infektion von Maiszünslerraupen im Laboratorium. 188
— —, Vorkommen an Ulmensplintkäfer. 463
Betabakterien, Bildung von Acetoin und Diacetyl in Magenlabkulturen. 446
—, Flora von Rinderfaeces. 444
Betakokken, Bildung von Acetoin und Diacetyl in Magenlabkulturen. 446
*Bienenbrut, Erkrankung durch Bacillus orpheus. 1
Bier, biologische Säuerung. 177
—, Estergeruch durch Kahmhefe, Ursache. 179
—, Filterentkeimung. 89
—, Filtrationsarbeiten. 178
—, Haltbarkeit, Einfluß von Brüh- oder Brennhaufenmalz. 447
—, Infektionsquellen, Beseitigung. 178, 179
—, Kaltsterilisation. 447
—, Wasserstoffionenkonzentration und Dielektrizitätskonstante. 87
—, Wildhefen aus Natureisschmelzwasser. 89
—, Würze, Änderung des Zuckergehalts bei der Gärung. 177
—, —, biologische Säuerung. 177
—, —, Einfluß auf Endvergärungsgrad. 87
—, — und Maischesäuerung durch Proteolytmalz. 447
—, Würzegärung, flüchtige Bukettstoffe. 446
Biochemie, Einführung, Lehrbuch. 171
Biotypen, Bildung nach Konjugation bei Paramaecium aurelia. 382
Birne, Fusicladium-Bekämpfungsversuche. 96
—, Weißfleckenkrankheit (Septoria piricola), starkes Auftreten. 363
Blattranddürre der Johannisbeere durch Kalimangel. 94
Blaufäule (Peronospora nicotianae) des Tabaks in U.S.A. 454
Blut, Wachstum von Bacterium typhi flavum in —. 80
*Boden, Atmung, kritische Bemerkungen. 158
—, Azotobacter-Gehalt in Italien. 282
— der Ukraine, Verbreitung von Spirochaeta cytophaga. 91
—, Desinfektionsmittel, Untersuchungen. 284
—, Dispersitätsgrad und chemische Veränderung, Einfluß biologischer Umwandlung organischer Stoffe. 449
—, Fruchtbarkeit, Maßnahmen zur Erhaltung und Förderung. 450
—, — und Bacillus mycoides. 93
*—, Fusarium-Flora in Costa Rica und Panama. 4
—, Humuszersetzung durch Corynebakterien. 449
—, Keimgehalt an anaeroben Bakterien in Japan. 355
*—, Keimzahlbestimmung von Azotobacter, Methodik. 289
*—, — — Bakterien. 127
—, Ligninwirkung, chemisch-physikalische Untersuchungen. 451
—, Meeres-, Stickstoffbindung. 284
—, mikrobiologische Untersuchung nach Cholodny, Einfluß der Glassorte. 450
—, Mikroflora, Abhängigkeit von der Düngung. 450
—, —, — — Temperatur und Feuchtigkeit. 90
—, — des Kaspischen Meerbodens. 168
*—, —, Einfluß auf Potentialdifferenz zwischen Pflanze und Boden. 255
—, —, Untersuchungsmethode. 283
*—, Mykobakterien, Entwicklungsgeschichte. 428
*—, Nitrifikation, Einfluß von Glukose. 385
*—, Protozoenfauna, Nährmedien zur Züchtung. 249
—, Schwefeloxydation, bakteriologische. 449
*—, Stickstoffbindung, Einfluß von Glukose. 385
—, Temperatur und Bakterienwachstum. 92
Bodenlehre, Handbuch. 77
Bodensäure, Entstehung, Wirkung, Ermittlung, Beseitigung. 434
Bohne, Busch-, Resistenzzüchtung gegen Brennfleckenkrankheit. 461
—, Sämlingssterben durch Rhizoctonia bataticola. 365
Borax, Bekämpfung der Herz- und Trokkenfäule der Rübe. 94
Bos indicus, Protozoenfauna, neue Gattung Epiplastron. 189

Botrytis cinerea, Fruchtfäule der Tomate. 286
— —, Kartoffelknollenfäule. 365
— —, Sporenkeimung, Einfluß der Luftfeuchtigkeit. 84
— epigaea, Wachstum bei höheren Temperaturen im Boden. 91
*Boudiera canina, Vorkommen in Haustiermist. 109
Branchellion torpedinis, symbiontische Einrichtungen. 381
Brand, Haferflug-, Bekämpfung mit chemischen Mitteln. 287
Brauerei, biologische Druckluftuntersuchung. 448
—, Elmocid-Desinfektionsverfahren. 88, 448
—, Entkeimung von Bierfiltern. 89
—, Infektionsquellen, Beseitigung. 178
—, Reinigung von Schlauchleitungen. 88
—, Schwankhalle als Infektionsquelle. 179
Braunkohle, Umwandlung in Düngemittel, Herstellungsverfahren. 282
Brennfleckenkrankheit der Buschbohne, Resistenzzüchtung. 461
Bromius obscurus, Bakteriensymbionten. 192
Bruchophagus gibbus, Befall von Luzernesaat in Rußland, Parasiten. 370
Bunsenbrenner, Schutztrichter. 172
Butter, Escherichia - Aerobacter - Nachweis. 176
—, Farbfehler durch Schwefeldioxyd. 84
—, fettspaltende Bakterien, Keimzahlbestimmung. 278
—, Holzgeschmack, Einfluß der Verpackung. 176
—, Vorkommen von Aerobacter-Arten. 85
Buttersäurebakterien, Flora von Rinderfaeces. 444
Butylalkohol, Herstellung, Gewinnung der Gärgase. 269
Butylenglykol, Gewinnung aus Kohlehydraten durch Gärung. 269
Byturus tomentosus, Schädigung an Himbeere, Bekämpfung. 375

Caporit, Desinfektion von Brunnenwasser. 355
Carbinol, Acetylmethyl-, Herstellungsverfahren. 269
Carotinoide, rote Farbstoffe von Hefe, Biochemie. 441
Cassida, Bakteriensymbionten. 192
*Cellvibrio fulva, Diagnose, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 42
*— vulgaris, Diagnose, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 44
Cephalobus striatus an Narzissen, Ringsymptome. 183
Cephalosporium acremonium, Löwenmaulwelke, Begleitpilz. 454
*— curtipes, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 41
Cerambyciden, Pilzsymbionten in Larven. 381
Cercarie, Entwicklungsstadium von Ostiolum oxyorchis in Lungenschnecke. 189
Cercospora coffeicola, Schwächeparasit an Kaffee. 359
— diazu, Froschaugenflecke an Soja. 462
Cestoden, Eingeweidewürmer der Fische, Fauna des Baltikums. 377
Ceutorrhynchus quadridens, Großschädling an Kohl. 370
*Chaetocladium Jonesii, Vorkommen in Haustiermist. 109
*Chaetomium-Arten, Vorkommen in Haustiermist. 109
*Chaetomium spirale, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 40
Champignon, Schädigung durch Sciara fenestralis. 369
Chilomastix bettencourti, Vorkommen in Ratten. 189
Chironomidenlarven, parasitisch in Wasserschnecken. 190
Chironomus, Larvenschädigung durch Coelomyces Chironomi, Beschreibung, Biologie. 376
Chlorkalk - Aktivierungsverfahren, Bekämpfung der Rübennematoden. 187
Chlorkalk, Desinfektion von Brunnenwasser. 355
Cholodny - Verfahren, mikrobiologische Bodenuntersuchung, Einfluß der Glassorte. 450
*Chrysanthemum indicum, Schwarzrandigkeit, Bakteriose. 320
*Cicer, Knöllchenbakterien, spezifische. 330
Citromyces glaber, Zitronensäurebildung, Herstellungsverfahren. 270
*Cladosporium album, Überführung in Gattung Hyalodendron. 315
— fulvum, Sporenkeimung, Einfluß der Luftfeuchtigkeit. 84
Clostridium butyricum jodophilum, Vorkommen im Darm. 80
— Pasteurianum, Verbreitung im Boden des Kaspischen Meeres. 169
— —, vergleichende Untersuchungen. 80
— polymyxa, Herstellung von Butylenglykol aus Kohlehydraten. 269
— thermocellum, Zellulosegärung. 439
Coccus, Schwächeparasit an Kaffee. 359
Coelomyces Chironomi, Parasit in Chironomuslarven, Beschreibung, Biologie. 376
Coli-aerogenes-Keime, Gehalt der Milch, Bedeutung. 277
Colletotrichum trifolii, Stengelbrenner an Luzerne, Auftreten in Deutschland. 366

*Coprinus-Arten, Vorkommen in Haustiermist. 109
*Copromyxa protea, Vorkommen in Haustiermist. 108
*Coremium glaucum, Vorkommen in Haustiermist. 109
Corticium coleroga, Schwarzfäule des Kaffees. 363
*Corynebacterium ferreosiliceum, Diagnose, Vorkommen. 162
Corynebakterien. Humuszersetzung im Boden. 449
—, Kultur in Kohlensäuregas. 439
Crocus, Trockenfäule durch Sclerotinia gladioli. 456
Cronartium ribicola, Infektionsvorgang an Pinus monticola. 366
Crotalaria - Arten, Knöllchenbakterien, Untersuchungen. 439
Cuprotect, neues Antisepticum für Haut und Schleimhaut. 384
Curly top an Zuckerrübe, anatomische Veränderungen im Blatt. 180
Cystibranchus respirans, symbiontische Einrichtungen. 381
*Cytophaga anularis, Diagnose, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 56
*— crocea, Diagnose, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 60
*— flavicula, Diagnose, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 62
*— globulosa, Diagnose, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 47
— Hutchinsoni, biologische Phasen, physiologische Eigenschaften. 91
*— silvestris, Diagnose, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 55
Cytosporella populi s. Dothichiza populea.

Daphnia magna, Hefeinfektion. 189
Darm, Bakterienflora als Immunitätsfaktor. 379
—, Vorkommen klostridienbildender Bakterien. 80
Dasynus piperis, Schädigung an Pfeffer in Niederländisch-Indien. 185
Dasytes niger, Bakteriensymbionten. 192
*Delitschia Auerswaldi, Vorkommen in Haustiermist. 109
Dendrobium pertinax, Pilzsymbionten in Larven. 381
Derris elliptica, Rohstoff für Rotenon. 360
Desinfektion, Aktivator zur Ionisierung von Silber und Chlor. 343
— durch Elmocid in der Brauerei. 448
—, Elmocid-Verfahren in der Brauerei. 88
—, geruchlose, mit Tonerde-Rhodan. 172
— von Brunnenwasser. 355
Diacetyl, Vorkommen in Magenlabkulturen, Bildung durch Bakterien. 445
Dianthus barbatus und chinensis, Rost, Puccinia arenariae, Bekämpfung. 364
Diaspis visci, Schädigung von Juniperus. 370
Diatraea saccharalis, Schädigung an Zukkerrohr, biologische Bekämpfung. 186
*Dicoccum asperum, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 40
*Dictyostelium mucoroides, Vorkommen in Haustiermist. 108
Didymella lycopersici, Tomatenkrankheit. 364
Dielektrizitätskonstante, Bedeutung bei der Bierbereitung. 87
Diphtheriebakterien, Kultur in Kohlensäuregas. 439
Diplodia zeae, Maisbefall, Resistenzzüchtung. 456
Discella carbonacea, Weidenkrebs. 462
Dothichiza populea, systematische Stellung. 287
Dothiorella populea s. Dothichiza populea.
Drahtwurm, Bekämpfung. 373
Düngemittel, organische, Herstellungsverfahren. 282
Düngung, Abhängigkeit der Bodenmikroflora. 450
Duwok-Futter, Beeinflussung der Milch. 353

Eccoptogaster, Bakteriensymbionten. 192
Edelmist, Mikroflora, anaerobe. 90
Eierfrucht, Krankheiten. 179
—, Schädigung durch Peronospora nicotianae in U.S.A. 455
Eingeweidewürmer der Fische, Fauna des Baltikums. 377
Eisenbakterien, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 168
Elmocid, Desinfektionsverfahren in der Brauerei. 88, 448
Empoasca fabae, Schädigung an Luzerne, Bekämpfung. 184
Engerling, Bekämpfung. 376
Enterokokken, Variabilitätsstudien. 79
*Entwicklungszyklus der Milchsäurebakterien. 67
Ephestia kühniella, Befall durch Microbracon hebetor, Entwicklung von Parasit und Wirt. 378
Epidinium, Vorkommen in Bos indicus. 189
Epiplastron, neue Protozoengattung, Vorkommen in Bos indicus. 189
Epitetranychus althaeae, Schwächeparasit an Kaffee. 359
Erbse, Blattrandkäfer, Massenauftreten, Bekämpfung. 371
—, Herzfleckigkeit, physiologische Erkrankung. 94
—, Kohlehydratbildung, Einfluß der Knöllchenbakterien. 380
Erdbeere, Crincle - Krankheit, Übertragung durch Myzus fragaefolii. 180

Erdbeere, Mosaikkrankheit, erblich bedingt. 95
Erdfloh, Bekämpfungsversuche an Hopfen. 374
—, Schädigung durch Howardula phyllotretae. 377
Erica, Rost, Uredo ericae, Bekämpfung. 364
Eriocheir sinensis, Monographie. 383
Ernobius-Arten, Pilzsymbionten in Larven. 381
Erysiphe lagerstroemiae, Diagnose, Vorkommen auf Lagerstroemia. 179
Escherichia, Nachweis in Butter. 176
— - Arten, Bestimmungsmethoden, Vorkommen in Molkereiprodukten. 85
*Eselmist, Pilzflora. 98
Essigsäure als Bodendesinfektionsmittel. 284
Euchlaena luxurians, Rost (Puccinia Sorghi), Infektionsversuche. 459
Eupelmus-Arten, Parasiten von Bruchophagus gibbus. 370
Euphorbia uralensis, Schädigung durch Phytomonas davidi. 182
Eutelus, Parasit von Bruchophagus gibbus. 370
Evania-Arten, Parasiten der amerikanischen Schabe. 377

Faserpflanzen, Röste, Einfluß von Metallen. 259
*Faulbrut, gutartige, der Biene, durch Bacillus orpheus. 1
Feige, Mosaikkrankheit in Kalifornien. 369
Ferrisiana virgata an Kaffeebäumen, Bekämpfung durch Blausäure. 372
Festuca rubra, Schneeschimmelbefall (Fusarium nivale), Bekämpfung. 458
*Fett, Bildung durch Penicillium javanicum. 411
*Filter, Ultramembran-, Herstellung, Anwendungsmöglichkeit. 398
Filtration, Agarmembranfilter, Trennung von Bakterienarten. 343
Fische, Eingeweidewürmer, Fauna des Baltikums. 377
Fischegel, symbiontische Einrichtungen. 381
Fischgift, Tephrosia Vogelii in Deutsch-Ostafrika. 384
Flachs s. Lein
Flagellaten (Trichonympha), in Termiten, Monographie, neue Arten 378
Flugbrand, Hafer-, Bekämpfung mit chemischen Mitteln. 287
Formaldehyd als Bodendesinfektionsmittel. 284
—, Bekämpfung des Sellerieschorfs. 363
Freesia, Trockenfäule durch Sclerotinia gladioli. 456
Frosch, Trematoden in Lunge, Entwicklungszyklus. 189
Froschaugenflecke (Cercospora diazu) an Soja. 462
Fruchtbarkeit, Boden-, Maßnahmen zur Förderung und Erhaltung. 450
*Fungi imperfecti, Vorkommen in Haustiermist. 109
*Fusarium-Arten, Vorkommen im Boden in Costa Rica und Panama. 4
Fusarium acuminatum, Fruchtfäule der Tomate. 286
— moniliforme, physiologische Spezialisierung, Temperaturansprüche. 458
— nivale, Schneeschimmel auf Golfplätzen, Bekämpfung. 458
*— roseum, Vorkommen in Haustiermist. 109
— vasinfectum, Baumwollwelke, Unterschied zu Waxahachie-Welke. 458
Fusicladium, Bekämpfung an Äpfeln. 95
—, — — Birnen. 96

*Gänsemist, Pilzflora. 98
*Gärung, Agglutination der Hefe. 212
—, Alkohol-, der Sojamilch. 280
—, Endvergärungsgrad, Abhängigkeit von der Würze. 87
—, Gasgewinnung bei Herstellung von Aceton und Butylalkohol. 269
—, Herstellung von Acetylmethylcarbinol. 269
—, — — Butylenglykol aus Kohlehydraten. 269
—, — — Gluconsäure. 271
—, — — Milchsäure aus Hausmüll. 270
—, — — Zitronensäure. 270, 271
*—, Kalt-, Untersuchungen über Kaltgärhefen. 226
—, Milchsäure-, Aktivator. 273
—, —, Aufschließung von Holzfaser für Futterzwecke. 448
—, —, der Sojamilch. 280
—, —, Holzzersetzung im Urwald. 452
*—, —, unter dem Temperaturminimum der Milchsäurebakterien. 17
*—, Verlauf und Hefeverteilung im Nährmedium. 218
—, Würze-, flüchtige Bukettstoffe. 446
—, Zellulose-, durch thermophile Bakterien. 439
—, Zucker-, und Hydrolyse der Kohlehydrate. 383
—, Zuckergehalt der Bierwürze, Änderung. 177
Galle, Wachstum von Bacterium typhi flavum in —. 80
Galt des Milchviehs, Bekämpfungsversuche. 277
Gasreaktionen, biologische. 93
Gelbkeime, Untersuchungen. 438
—, Wachstum in Blut und Galle. 80
—, Wandlungsfähigkeit, Umwandlung in Typhusbakterien. 80
Gerste, Sommer-, Mehltaubefall, Ausgang von Wintergerste. 286

Gerste, Streifenkrankheit, Infektionsbedingungen, Temperatureinfluß. 455
Getreide, Schädlingsbekämpfung in Silos, Fortschritte. 188
Giardia, Vorkommen in Ratten. 189
Gibberella saubinetii, Infektionsversuche an Maissämlingen. 364
Gladiolus, Schorf durch Bacterium marginatum, Bekämpfung. 180
—, Trockenfäule durch Sclerotinia gladioli. 456
Gloeosporium inconspicuum, Blattflecke an Ulmus americana, Bekämpfung. 463
— ulmicolum, Blattflecke an Ulmus americana, Bekämpfung. 463
Glukonsäure, Bildung durch Bact. gluconicum. 435
—, Herstellungsverfahren, biologisches. 271
*Glukose, Einfluß auf Stickstoffbindung im Boden. 385
Gnomonia ulmea, Blattflecke an Ulmus americana, Bekämpfung. 463
*Gonidien bei Bact. casei, Bildung und Entwicklung zu stäbchenförmigen Zellen. 67
Gramineen, Sclerotium-Krankheiten. 366
Graphium ulmi, Infektionsversuche, unterschiedliche Anfälligkeit der Ulmenarten. 463
— —, Ulmensterben und Frostschäden. 363
Gryllotalpa vulgaris, wirtschaftl. Bedeutung für Oberösterreich, Biologie. 185

Habrocytus medicaginis, Parasit von Bruchophagus gibbus. 370
Hafer, Blattflecken durch Septoria tritici, physiologische Form. 456
—, Flugbrandbekämpfung mit chemischen Mitteln. 287
Hallimasch, Parasitismus, Infektionsvorgang, Wirtsresistenz. 457
Hanf, Röste, Einfluß von Metallen. 359
Hansenula nivea, Beschreibung, Vorkommen in Sauerteig. 85
— panis, Beschreibung, Vorkommen in Sauerteig. 85
*Haustiere, koprophile Pilze der —. 97
*Hefe, Agglutination. 212
—, Anstell-, Kontrolle. 86
—, Autolyse und Widerstandsfähigkeit. 174
—, Bier-, enzymatische Rohrzuckerspaltung. 350
—, —, Flockung und Bruch verursachende Stoffe. 177
—, Endvergärungsgrad, Abhängigkeit von der Würze. 87
—, Färbbarkeit toter und lebender Zellen. 82
*—, Flockenbildung. 212
—, hoch- und niedervergärende Rassen. 85
Hefe, Infektion von Daphnia magna. 189
—, Kahm-, Estergeruch des Bieres. 179
*—, Kaltgär-, Untersuchungen. 226
—, milchwirtschaftlich wichtige, mikroskopische Bestimmung. 434
—, Nachweis mitogenetischer Strahlung. 379
—, rote, Biochemie der Farbstoffe. 441
—, Sprossung, Einfluß ätherischer Öle. 275
—, Symbionten von holzfressenden Insektenlarven. 381
—, Thiosulfatreduzierung. 274
—, Tötung durch ätherische Öle. 384
—, — — menschliche Strahlung. 380
*—, Verteilung im Nährmedium und Gärungsverlauf. 218
—, Verwertung, heutiger Stand. 446
*—, Volutinnachweis in lebenden Zellen. 425
—, Wachstum bei Sauerstoffmangel. 86
—, wilde, in Bier aus Natureisschmelzwasser. 89
—, Züchtung auf Algenwürze. 89
Heilstoffe, Herstellungsverfahren, mikrobiologisches. 436
Helminthosporium gramineum, Infektionsbedingungen, Temperatureinfluß. 455
Herzfleckigkeit der Erbsen. 94
Herz- und Trockenfäule der Rübe, Bekämpfung. 94
Heterodera radicicola, Bekämpfung, chemische. 186
— —, physiologische Untersuchungen. 372
— schachtii an Kartoffel in Irland. 183
— —, Bekämpfung durch Reizbeeinflussung. 187
Hexamitus muris, Vorkommen in Ratten. 189
Himbeere, Befall durch Byturus tomentosus, Bekämpfung. 375
—, Rost (Phragmidium rubi idaei), Infektionsversuche. 462
—, Wurzelkropf (Bacterium tumefaciens). 367
Hirse, Schädigung durch Tolyposporium filiferum. 365
Hirudineen, symbiontische Einrichtungen. 381
Holz, Futterstoff aus —, biologisches Verfahren. 448
—, Konservierungsmittel, Prüfungsmethoden. 358
—, Zersetzung im brasilianischen Urwald. 452
Holzgeschmack der Butter, Einfluß der Verpackung. 176
Holzschliff, mikrobiologische Untersuchungen. 82
Hopfen, Erdflohbefall, Bekämpfungsversuche. 374

Hoplocampa minuta, Befall von Pflaumen, Schadenfeststellung. 370
Hormone, Wachstums-, Gewinnung aus Mikroorganismen. 436
Howardula phyllotretae, Parasit von Phyllotreta undulata. 377
*Hühnermist, Pilzflora. 98
Humus, Bildung aus Pilzmyzel. 353
Humusstoffe, Umwandlung in Düngemittel, Herstellungsverfahren. 282
*Hundemist, Pilzflora. 98
*Hyalodendron album s. Cladosporium album.
*— lignicola, neue Gattung und Art, Diagnosen, zwei Formen. 315
Hydrolyse der Kohlehydrate und Zuckergärung. 383
Hylastes, Bakteriensymbionten. 192
Hylesinus, Bakteriensymbionten. 192

Immunität, Darmflora als Faktor. 379
Immunitätszüchtung gegen Weizenrost. 459
Impfstoffe, Herstellungsverfahren, mikrobiologisches. 436
Insekten, Bekämpfung durch Rotenon. 360
—, Gewöhnung an Gifte. 372
—, holzfressende, Pilzsymbionten in Larven. 381
Ipiden, Bakteriensymbionten. 192
Iris, Schädigung durch Tylenchus dipsaci. 371
Isaria farinosa, Infektion von Maiszünslerraupen im Laboratorium. 188
Ixodiden, symbiontische Einrichtungen. 381

Johannisbeere, Blattranddürre als Kalimangel. 94
Juniperus, Schädigung durch Schildläuse (Diaspis visci). 370

Käfer, Bakteriensymbionten. 191, 192
—, Rüssel-, symbiontische Bakterien. 190
Käse, Blähung, Abhängigkeit von der Disposition der Anlieferungsmilch. 445
—, Fehlreife bei Verwendung von Duwokmilch. 353
—, Reifung, Rolle der Mikrokokken. 444
—, Schmelz-, Blähung, biologische Bekämpfungsversuche. 279
Kaffee, Krankheiten, physiologische Welke. 359
—, Läusebekämpfung durch Blausäure. 372
—, Schwarzfäule, Corticium koleroga. 363
—, Siebröhrenkrankheit. 181
Kakao, Hexenbesen und physiologische Krankheiten. 362
Kali, Wirkung auf Bodenmikroflora. 450
Kalimangel, Blattranddürre der Johannisbeeren. 94
Kaliumsulfokarbonat als Bodendesinfektionsmittel. 284
Kalotermes minor, Vergesellschaftung mit Pilzen, beziehungslose. 192
Kaltsterilisation, Wesen, Entwicklungsgeschichte. 447
*Kaninchenmist, Pilzflora. 98
Kartoffel, Knollenfäule durch Botrytis cinerea. 365
—, Krankheiten und Beschädigungen der Knollen. 96
—, Nematodenbefall in Irland, Untersuchungen. 183
—, Schorf, Bekämpfung, Antagonismus zwischen Actinomyces-Arten und Bakterien. 464
—, Topnecrose-Virus und erworbene Immunität. 368
—, Verbrennung bei Kupferkalkspritzung, Temperaturwirkung. 360
Kartoffelkäfer, Kälteempfindlichkeit. 371
*Katzenmist, Pilzflora. 98
Kefir, Herstellung aus Sojamilch. 280
Kiefer s. a. Pinus.
Kirschfruchtfliege, Biologie, Bekämpfung in der Schweiz. 185
—, Epidemiologie und Bekämpfung. 375
Klärschlamm, Umwandlung in Düngemittel, Herstellungsverfahren. 283
Klee, Saatgut, Gesundheitszustand, Samenbeize. 457
Kleiderläuse, Bakteriensymbionten, Untersuchungen. 191
Knoblauch, Zwiebelfäule durch Aspergillus alliaceus. 455
Knöllchenbakterien, Einfluß auf Kohlehydratbildung. 380
—, monographische Bearbeitung. 354
—, physiologische Untersuchungen. 83
*—, spezifische, an Cicer. 330
— von Trifolium alexandrinum, Fehlen im Boden, Impfung. 354
— — Vigna sinensis und Crotalaria-Arten, Untersuchungen. 439
Kohl, Samen, frei von Phoma lingam und Bacterium campestre, Ursachen. 464
—, Triebrüßler als Großschädling. 370
Kohle, Braun-, Stein-, Umwandlung in Düngemittel, Herstellungsverfahren. 282
Kohlehydrate, Bildung in Leguminosen, Einfluß der Knöllchenbakterien. 380
—, biologische Analyse. 173
—, Hydrolyse und Zuckergärung. 383
Kohlensäure, Einfluß auf Mikroflora des Weizenkorns. 440
Kohlfliege, Bekämpfung durch Sublimat, Wirtschaftlichkeit. 188
Kollot (Phytophthora- und Rhizoctonia-Befall) des Tabaks. 454
Kompostierungsverfahren für pflanzliche Abfälle in den Tropen. 283
*Koprophyten der Haustiere, Untersuchungen. 97

Kornkäfer, Bekämpfung in Silos, Fortschritte. 188
Krebs, Weiden-, Discella carbonacea. 462
*Kuhmist, Pilzflora. 98
*Kumys, Charakteristik der Mikroflora. 18
—, Herstellung aus Sojamilch. 280
Kupfer, Spritz- und Stäubemittel, Nachweis auf Blättern. 453
Kupferkalkbrühe, Bekämpfung der Ananas-Herzfäule. 454
—, Verbrennungen an Kartoffeln, Temperaturwirkung. 360
Kurzwellenbestrahlung, Einfluß auf Mikroorganismen. 190

Läuse, Kleider-, Bakteriensymbionten, Untersuchungen. 191
Lagerstroemia indica, Schädigung durch Erysiphe lagerstroemiae n. sp. 179
Lapeirousia cruenta, Trockenfäule durch Sclerotinia gladioli. 456
*Lasiobolus-Arten, Vorkommen in Haustiermist. 109
Lecanium viride an Kaffeebäumen, Bekämpfung durch Blausäure. 372
Leguminosen, Kohlehydratbildung, Einfluß der Knöllchenbakterien. 380
Lein, Röste, Einfluß von Metallen. 359
Leptothrix, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 168
Leptura rubra, Pilzsymbionten in Larven. 381
Leuchtgas, biologische Entgiftung. 452
Leukozytengehalt der Milch, Bromthymolblau- und Katalaseprobe. 352
Libelle, Zwischenwirt für Ostiolum oxyorchis. 189
Lieskeella, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 168
Lignin, Bedeutung als Boden- und Pflanzendünger. 451
Limnaea limosa, Befall durch Zuckmückenlarven. 190
Liodontomerus, Parasit von Bruchophagus gibbus. 370
Lipoide des Bact. pyocyaneus, bactericide und hämolytische Bestandteile. 81
Lisea Fujikuroi, physiologische Spezialisierung, Infektion von Mais, Temperaturansprüche. 458
*Lithiumchlorid, Einfluß auf Bacterium coli. 134
Löwenmaul, Welke, Phytophthora-Art. 454
Lolium perenne, Stickstoffbindung durch endophyten Pilz. 380
Luft, Druck-, biologische Untersuchung. 448
Lungenschnecke, Zwischenwirt für Ostiolum oxyorchis. 189
Luzerne, Schädigung durch Bruchophagus gibbus in Rußland. 370
—, — — Empoasca fabae, Bekämpfung. 184
Luzerne, Stengelbrenner (Colletotrichum trifolii), Auftreten in Deutschland. 366

Macrosporium tomato, Fruchtfäule der Tomate. 286
*Mäusekot, Pilzflora. 98
Magenlabkulturen, Vorkommen von Acetoin und Diacetyl. 445
Mahonia, Rost (Uropyxis sanguinea), Biologie. 364
Maikäfer, Bekämpfung, Unkostenberechnung. 375
Mais, Befall durch Bakanae-Pilz (Lisea Fujikuroi). 458
—, Rost (Puccinia Sorghi), Infektionsversuche. 459
—, Sämlingsinfektion mit Gibberella saubinetii. 364
—, Schädigung durch Diplodia zeae, Resistenzzüchtung. 456
Maiszünsler, Pilzinfektion, Laboratoriumsversuche. 188
Maische, biologische Säuerung. 177
Malz, Proteolyt-, Bierwürze- und Maischesäuerung. 447
Malz, Brüh- oder Brennhaufen-, Untersuchungen. 447
Marasmius perniciosus, Erreger des Kakaohexenbesens, Bekämpfung. 362
Mastigomyces Philippovi, Gattungs- und Artdiagnose, Vorkommen auf Mirobalanafrüchten. 82
*Mastigophoren, Fauna des Bodens, Nährmedien zur Züchtung. 250
Maulwurfsgrille, wirtschaftl. Bedeutung für Oberösterreich, Biologie. 185
*Meerschweinchenkot, Pilzflora. 98
Mehlmotte, Befall durch Microbracon hebetor, Entwicklung von Parasit und Wirt. 378
Mehltau, Befall der Sommergerste, Ausgang von Wintergerste. 286
—, — von Acer negundo. 365
—, falscher, des Tabaks in U.S.A. 454
*Melanogone puccinioides, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 41
*— —, Gattungs- und Artdiagnose, Vorkommen. 74
Melone, Wasser-, Mosaikkrankheit. 181
*Membranfilter, Ultra-, Herstellung, Anwendungsmöglichkeit. 398
Merulius lacrymans, Holzzersetzung im Urwald. 452
Metacercarie, Entwicklungsstadium von Ostiolum oxyorchis in Libelle. 189
Metalle, Einfluß auf Gespinstfaser-Röste. 359
—, kristalline, Wassersterilisierung. 94
Metarrhizium anisopliae, Parasit von Tomaspis postica. 378
Methan, Bildung durch anaerobe Bakterien. 350
Microbracon hebetor, Parasit von Ephestia kühniella, Entwicklungsbedingung. 378

Micrococcus Eykmannii, Beschreibung, Vitaminbedarf. 81
— pyogenes albus, Vorkommen an Weizenkörnern, CO_2-Einfluß. 440
*— solidus, Diagnose, Vorkommen in „Kamaboko". 148
Micrococleus chtonoplastes, Anwendungsmöglichkeit bei Seesalzgewinnung. 358
Microspira-Arten, Vorkommen in vulkanischem Schlamm. 452
Microspira aestuaria, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 168
Mikrobakterien, Flora von Rinderfaeces. 444
Mikrobiologie, Rollkulturröhrchen zur Keimzahlbestimmung. 437
—, Untersuchungen des Kaspischen Meerbodens. 168
Mikrokokken, Acidoproteolyten. 444
—, Flora von Rinderfaeces. 443
Mikromanipulator, Neukonstruktion Ultropak. 343
Mikroorganismen, Abscheidung von Hormonen, Gewinnungsverfahren. 436
—, anaerobe, in Stalldünger und Edelmist. 90
—, Antagonismus zwischen —. 82
—, Beeinflussung durch Kurzwellenstrahlen. 190
—, Biochemie, Acidoproteolyten. 444
—, Boden-, Abhängigkeit von der Düngung. 450
—, —, — — Temperatur und Feuchtigkeit. 90
*—, —, Einfluß auf Potentialdifferenz zwischen Pflanze und Boden. 255
—, —, Untersuchungsmethode. 283
—, Flora des Weizenkorns, CO_2-Einfluß. 440
—, — in Wasser, Untersuchungsmethode. 451
—, Humusbildung aus Pilzmyzel. 353
—, Keimzahlbestimmung durch Rollkulturröhrchen. 437
—, Kultur und Kolonien. 286
—, menschen- und tierpathogene, Reinzüchtungsverfahren. 437
—, Zerstörung von Viskosefabrikaten. 358
Milben, Bekämpfung, Heißwasserbehandlung von Narzissenzwiebeln. 182
Milch, bakteriologischer Befund und Punktzahl der Stallkontrolle. 175
—, Coli-aerogenes-Bakterien, Beiträge zur Kenntnis. 351
—, Duwok-, Eignung für Käserei. 353
—, fettspaltende Bakterien, Keimzahlbestimmung. 278
—, Gehalt an Coli-aerogenes-Keimen, Bedeutung. 277
Milch, Handels-, Keimgehalt und Haltbarkeit in Großstadt. 441
—, Keimzahl, Einfluß auf Käseblähung. 445
Milch, Leukozytengehalt, Bromthymolblau- und Katalaseprobe. 352
—, Pasteurisierung und Bakterienflora. 352
—, Säuerung, mangelhafte, durch Streptokokken. 445
—, schleimige, Erreger, Verhinderung. 84
—, thermophile Bakterien nach Kurzzeiterhitzung. 175
—, Vorkommen von Escherichia- und Aerobacter-Arten. 85
Milchsäure, Bildung bei Holzzersetzung. 452
*—, Gärung unter dem Temperaturminimum der Milchsäurebakterien. 17
—, Herstellung aus Gerste durch Bacterium Delbrücki. 350
—, — — Hausmüll durch Gärverfahren. 270
Milchvieh, galtverseuchte Bestände, Sanierungsmaßnahmen. 277
Miracidium, Entwicklungsstadium von Ostiolum oxyorchis in Lungenschnecke. 189
Mirobalanafrüchte, Vorkommen von Mastigomyces Philippovi an —. 83
*Mist, Haustier-, Pilzflora. 98
Mitrula sclerotiorum, Fehlstellen auf Kleefeldern. 457
Modifikationen, Auftreten bei Bakterien. 78
Molkerei, bakteriologische Kontrolle. 434
—, Gebrauchswasserversorgung. 355
Molkereiprodukte, Vorkommen von Escherichia- und Aerobacter-Arten. 85
Mollusca physa fontalis, Eientwicklung, Einfluß ätherischer Öle. 275
Monbretia crocosmaeflora, Trockenfäule durch Sclerotinia gladioli. 456
Monilia krusei, biologische Zuckeranalyse. 173
— tropicalis, biologische Zuckeranalyse. 173
Mosaikkrankheit der Feige in Kalifornien. 369
— — Wassermelone. 181
— des Tabaks, Bekämpfung. 181
— — —, Ertrags- und Wertminderung. 181
— — —, Infektionsversuche. 368
— — —, thermale Tötungspunkte des Virus. 181
Mucor-Arten, Temperaturansprüche, vergleichende Untersuchungen. 274
Mucor circeneloides, Vorkommen an Weizenkörnern, CO_2-Einfluß. 440
— mucedo, Abscheidung von Hormonen, Gewinnungsverfahren. 436
— —, Wachstum bei höheren Temperaturen im Boden. 91
— racemosus, Wachstum bei höheren Temperaturen im Boden. 91
Mucoraceen, Vorkommen an Weizenkörnern, CO_2-Einfluß. 440

*Mucorineen, Vorkommen in Haustiermist. 108
Müllverwertung, Herstellung von Milchsäure durch Gärverfahren. 270
Mycosphaerella sentina, Weißfleckenkrankheit der Birnenblätter, starkes Auftreten. 363
*Mykobakterien, Boden-, Entwicklungsgeschichte. 428
Mykologie, Grundrisse, Handbuch. 169
*Myxomyceten, Vorkommen in Haustiermist. 108
Myzus fragaefolii, Übertragung der Crincle-Krankheit der Erdbeere. 180

Nadsonia fulvescens, Sprossung, Einfluß ätherischer Öle. 275
Nährboden, Agar-, Einfluß von Zusätzen auf Festigkeit. 344
—, Spezial-, für Reinkultur menschen- und tierpathogener Mikroorganismen. 437
—, künstlicher, Ersatz für Fleischnährmedien, Herstellungsverfahren. 435
Narzisse, Blattbrand durch Stagonospora curtissii. 180
—, Heißwasserbehandlung der Zwiebeln gegen tierische Schädlinge. 182
—, Nematodenbefall, Ringsymptome nicht spezifisch. 183
Narzissenfliege, Bekämpfung, Heißwasserbehandlung der Zwiebeln. 182
Nelke, Bart-, Rost (Puccinia arenariae), Bekämpfung. 364
Nematoden an Narzissen, Ringsymptome nicht spezifisch. 183
—, Befall und Wurzelentwicklung bei Ananas und Vigna. 182
—, Eingeweidewürmer der Fische, Fauna des Baltikums. 377
—, Kartoffel-, Untersuchungen in Irland. 183
—, Parasiten von Phyllotreta undulata. 377
—, Rüben-, Bekämpfung durch Reizbeeinflussung. 187
—, —, — — Chlorkalk - Aktivierungsverfahren. 187
—, Schädigung von Iris-Arten. 371
—, Wurzel-, Bekämpfung in Gewächshäusern, chemische. 186
—, —, physiologische Untersuchungen. 372
*Nitrifikation im Boden, Einfluß von Glukose. 385
— — Kaspischen Meer. 169
*Nitrobacter, Verbreitung in verschiedenen Stallmistsorten. 204
—, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 169
*Nitrosomonas, Verbreitung in verschiedenen Stallmistsorten. 196
—, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 169
Nosodendron fasciculare, Bakteriensymbionten. 192

Obstbäume, Spritzungen, Rentabilitätsberechnungen in Estland. 286
—, Verminderung des Fruchtansatzes bei Blütenspritzung mit Schwefel. 361
—, Wurzelkropf (Bacterium tumefaciens). 367
Ochrobium, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 168
*Oedocephalum glomerulosum, Vorkommen in Haustiermist. 109
Öl, pflanzliches, ätherisches, antiseptische Eigenschaften. 384
Omphalea flavida, Schwächeparasit an Kaffee. 359
*Oospora lactis, Volutinnachweis in lebenden Zellen. 426
— variabilis, Vorkommen an Weizenkörnern, CO_2-Einfluß. 440
Ophryoscolex, Vorkommen in Bos indicus. 189
Ornithodorus, symbiontische Einrichtungen. 382
Ostiolum confusum s. O. oxyorchis.
— oxyorchis, Vorkommen in Froschlunge, Entwicklungszyklus, synonym O. confusum. 189
Oxalis-Arten, Aecidienwirte für Puccinia Sorghi und P. Andropogonis. 459
Oxymirus cursor, Pilzsymbionten in Larven. 381

*Panaeolus-Arten, Vorkommen in Haustiermist. 109
Paprika, Krankheiten. 179
Paramecium, Unsterblichkeit. 382
— aurelia, Biotypenbildung nach Konjugation. 382
Pasteurisierung, Milch-, Einfluß auf Bakterienflora. 352
—, —, Entwicklung thermophiler Bakterien. 175
Pediococcus cerevisiae, Lebensbedingungen, Bedeutung bei der Bierbereitung. 87
— lactis acidi, Milchsäurebildung bei Holzzersetzung. 452
Penicillium, Paraffin- und Wachsoxydierung, Energieverhältnisse. 348
— - Arten, Vergesellschaftung mit Termiten, beziehungslose. 192
— - —, Vorkommen an Weizenkörnern, CO_2-Einfluß. 440
*— - —, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 39
— candidum, Wachstum bei höheren Temperaturen im Boden. 91
— crustaceum, Wachstum bei höheren Temperaturen im Boden. 91
— glaucum, Sporenkeimung, Einfluß der Luftfeuchtigkeit. 84

*Penicillium javanicum, Fett- und Zitronensäurebildung, physiologische Untersuchungen. 411
— oxalicum, Zerstörung von Viskosefabrikaten. 358
— Roqueforti, Kultur auf synthetischen Medien, Enzymbildung. 348
Pepton, Ausnutzbarkeit durch Bakterien. 79
Peronospora nicotianae, Blaufäule des Tabaks in U.S.A. 454
Petroleum, Wirkung auf Pilze und höhere Pflanzen. 453
*Pettenkoferien, Ablehnung des Begriffs. 134
Pfeffer, Schädigung durch Dasynus piperis in Niederländisch-Indien. 185
—, spanischer, Krankheiten der Früchte. 179
—, —, Schädigung durch Peronospora nicotianae in U.S.A. 455
Pfeilgift, Acocanthera-Arten in Deutsch-Ostafrika. 384
*Pferdemist, Pilzflora. 98
*—, Verbreitung der Nitrifikationsbakterien. 205
Pflanzenkrankheiten, Schadenschätzung in U.S.A. 285
—, nichtparasitäre, Handbuch. 170
Pflanzenpathologie, ätiologische. 285
*Pflanzenreste, biologische Bearbeitung. 154
Pflaume, Befall durch Sägewespe, Schadenfeststellung. 370
Phloëmnekrose des Kaffeebaumes. 181
Phoma apiicola, Sellerieschorf, Bekämpfung durch Uspulun und Formaldehyd. 363
— destructiva, Fruchtfäule der Tomate. 286
— lingam, Nichtbefall von Kohlsamen, Ursachen. 464
Phomopsis abietina, anatomische Untersuchungen. 287
— microspora, Beschreibung, Vorkommen an Douglastanne. 287
Phosphorsäure, Wirkung auf Bodenmikroflora. 450
Phragmidium rubi idaei, Infektionsversuche, Einfluß von Temperatur und Feuchtigkeit. 462
Phycomyces nitens, Besäungsdichte und Wirkung von Röntgen- und ultravioletten Strahlen. 276
Phyllosticta solitaria, Sporenkeimung, Einfluß äußerer Faktoren. 441
Phyllotreta undulata, Schädigung durch Howardula phyllotretae. 377
Physalis-Arten, Wirtspflanzen für Wassermelonenmosaik. 181
Physalospora salicis, Zweigdürre an Weide. 462
Phytolacca rigida, Wirtspflanze für Wassermelonenmosaik. 181
Phytomonas davidi, Parasit im Milchsaft von Euphorbia uralensis. 182
— leptovasarum, Siebröhrenkrankheit des Kaffeebaumes. 181
Phytophthora, Löwenmaulwelke. 454
— - Arten, Ananas-Herzfäule, Bekämpfung. 454
— cambivora, Schwarzfäule an Walnuß. 367
— infestans, Kraut- und Fruchtfäule der Tomate. 286
— nicotianae, Schädigung an Tabak. 454
*Pilobolus-Arten, Vorkommen in Haustiermist. 109
Pilze, Abscheidung von Hormonen, Gewinnungsverfahren. 436
—, Beeinflussung durch Kurzwellenbestrahlung. 190
—, Empfindlichkeit gegen Petroleumöle. 453
—, Flora des Weizenkorns, CO_2-Einfluß. 440
—, Gluconsäurebildung, Herstellungsverfahren. 271
—, Holzzersetzung im brasilianischen Urwald. 452
—, Humusbildung aus Myzel. 353
*—, koprophile, der Haustiere. 97
—, pflanzenpathogene Bekämpfung durch Flugzeuge in U.S.A. 286
—, Schimmel-, milchwirtschaftlich wichtige, Bestimmung. 434
— , —, Paraffin- und Wachs - Oxydierung, Energieverhältnisse. 347
—, —, Zitronensäurebildung, Herstellungsverfahren. 270, 438
—, serologische Untersuchungen, artspezifische Präzipitinreaktion. 347
—, Sporenkeimung, Einfluß der Luftfeuchtigkeit. 84
—, symbiontische, in holzfressenden Insektenlarven. 381
—, Vergesellschaftung mit Termiten, beziehungslose. 192
*—, Volutinnachweis in lebenden Zellen. 426
*—, zellulosezersetzende, in Waldstreu. 38
Pinus monticola, Cronartium-Befall, Nadelanfälligkeit, unterschiedliche. 366
Pipette, neue Apparatur. 343
Piricularia oryzae, Schädigung von Reis, Einfluß von Umweltsfaktoren. 288
Piscicola-Arten, symbiontische Einrichtungen. 381
*Plectonema phormidioides, Vorkommen auf Vaucheria-Polstern. 150
Plectridium cellulolyticum, Zellulosezersetzung, Isolierung aus Rinderpansen. 440
Pneumokokken, Umwandlung in Streptokokken. 345
—, Variabilitätsstudien. 79
Poa-Arten, Schneeschimmelbefall (Fusarium nivale), Bekämpfung. 458

*Podospora-Arten, Vorkommen in Haustiermist. 109
Polyploidie der Pflanzen, Auftreten bei Tumorenbildung. 288
*Potentialdifferenz zwischen Pflanze und Boden, Einfluß der Mikroflora. 255
Propionsäurebakterien, Flora von Rinderfaeces. 444
Proteolytmalz, Bierwürze- und Maischesäuerung. 447
Proteus vulgaris, biologische Zuckeranalyse. 173
*Protozoen, Fauna des Bodens, Nährmedien zur Züchtung. 249
—, — in Bos indicus, neue Gattung Epiplastron. 189
—, — — Ratten. 189
Pseudococcus citri an Kaffeebäumen, Bekämpfung durch Blausäure. 372
— —, Schwächeparasit an Kaffee. 359
*Pseudomonas syringae, Schwarzrandigkeit an Chrysanthemum indicum. 320
Pseudotsuga taxifolia, Triebspitzenverkrümmungen. 362
Puccinia Andropogonis, Uredo auf Andropogon, Aecidien auf Oxalis. 459
— arenariae, Schädigung von Bartnelken, Bekämpfung. 364
— coronifera, Resistenzgrad und Entwicklungszustand des Wirts. 459
— —, Resistenz und Ernährung der Wirtspflanze. 460
— glumarum, Immunitätszüchtung. 459
— —, Resistenzgrad und Entwicklungszustand des Wirts. 459
— —, Resistenz und Ernährung der Wirtspflanze. 460
— simplex, Resistenzgrad und Entwicklungszustand des Wirts. 459
— —, Resistenz und Ernährung der Wirtspflanze. 460
— Sorghi, Resistenz und Ernährung der Wirtspflanze. 460
— —, Wirtsspezialisierung, Infektionsversuche. 459
— triticina, Immunitätszüchtung. 459
— —, Resistenzgrad und Entwicklungszustand des Wirts. 459
— —, Resistenz und Ernährung der Wirtspflanze. 460
Purpurbakterien, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 168
Pyocyaneuslipoide, bactericide und hämolytische Bestandteile. 81
Pyrausta nubilalis, Pilzinfektionen, Laboratoriumsversuche. 188
Pythium aphanidermatum, Keimlingskrankheit an Tabak, neu für Ostjava. 463
— —, Stengelbrand des Tabaks. 461
— deliense, Diagnose, Stengelbrand des Tabaks. 461
— indigoferae, Unterschied zu P. deliense. 462
Pythium myriotylum, Diagnose, Stengelbrand des Tabaks. 461

Rahm, Vorkommen von Aerobacter-Arten. 85
Rana aurora draytoni, Trematoden in Lunge, Entwicklungszyklus. 189
Rasen, Golf-, Schneeschimmel, Bekämpfung. 458
Ratten, hygienische und wirtschaftliche Bedeutung und Bekämpfung. 77
—, Protozoenfauna. 189
*Rattenkot, Pilzflora. 98
Reblaus, Verbreitung in Deutschland. 375
Redoxpotential, Einfluß auf Bakterienwachstum. 347
Reis, Piricularia-Befall, Einfluß von Umweltsfaktoren. 288
Resistenz, Rost-, Einfluß des Entwicklungszustandes der Wirtspflanze. 459
—, —, — der Ernährung der Wirtspflanze. 460
Resistenzzüchtung gegen Brennfleckenkrankheit bei Bohnen. 461
— — Diplodia zeae. 456
— — Weizenrost. 459
Reticulitermes hesperus, Vergesellschaftung mit Pilzen, beziehungslose. 192
Rhagium-Arten, Pilzsymbionten in Larven. 381
Rhagoletis cerasi, Biologie, Bekämpfung in der Schweiz. 185
— —, Epidemiologie und Bekämpfung. 375
Rhipicephalus, symbiontische Einrichtungen. 382
Rhizobium-Arten, physiologische Untersuchungen. 83
Rhizoctonia bataticola, Sämlingssterben an Bohnen. 365
— solani, Schädigung an Tabak. 454
Rhizopus nigricans, Testobjekt für phytotoxische Wirkung von Ölen. 453
— —, Wachstum bei höheren Temperaturen im Boden. 91
— reflexus, Abscheidung von Hormonen, Gewinnungsverfahren. 436
Rhodanidlösung, saure, zur geruchlosen Desinfektion. 172
*Rhodococcus puniceus, Diagnose, Vorkommen in „Kamaboko". 148
*Rhyparobius crustaceus, Vorkommen in Haustiermist. 109
Rhytisma acerinum, Befall von Acer negundo. 365
Rinder, indische, Protozoenfauna, neue Gattung Epiplastron. 189
Rinderfaeces, Vorkommen milchwirtschaftlich wichtiger Bakterien. 443
Röntgenstrahlen, Einfluß auf Phycomyces, Abhängigkeit von Besäungsdichte. 276
Röste, Gespinstfaser-, Einfluß von Metallen. 359

Rose, Zweiganschwellungen durch Agrilus chrysodores f. obtusus. 371
Rosellinia, Schwächeparasit an Kaffee. 359
Rost, Eriken-, Uredo ericae, Bekämpfung. 364
—, Gersten-, Resistenz und Ernährung der Wirtspflanze. 460
—, —, Resistenzgrad und Entwicklungszustand des Wirts. 459
—, Hafer-, Resistenz und Ernährung der Wirtspflanze. 460
—, —, Resistenzgrad und Entwicklungszustand des Wirts. 459
—, Himbeergelb-,Infektionsversuche. 462
—, Hirse-, Resistenz und Ernährung der Wirtspflanze. 460
—, —, Wirtsspezialisierung, Infektionsversuche. 459
—, Mahonien-, Uropyxis sanguinea, Biologie. 364
—, Nelken-, Puccinia arenariae, Bekämpfung. 364
—, Weizen-, Immunitätszüchtung. 459
—, —, Resistenz und Ernährung der Wirtspflanze. 460
—, —, Resistenzgrad und Entwicklungszustand des Wirts. 459
—, Weizenschwarz-, Ernteschäden. 360
Rotenon, Insektenbekämpfungsmittel. 360
Rubus, Rost (Phragmidium rubi idaei), Infektionsversuche. 462
Rübe, Herz- und Trockenfäule, Bekämpfung. 94
—, Nematodenbekämpfung durch Reizbeeinflussung. 187
—, — — Chlorkalk - Aktivierungsverfahren. 187
—, Zucker-, Curly top, anatomische Veränderungen im Blatt. 180
Rüsselkäfer, symbiontische Bakterien. 191

Saccharomyces cerevisiae, Färbbarkeit toter und lebender Zellen. 82
*— intermedius var. turicensis, Kaltgärhefe, Morphologie, Physiologie. 247
— marxianus, biologische Zuckeranalyse. 173
*Saccobolus-Arten, Vorkommen in Haustiermist. 109
Säuerung, biologische, Geschichtliches. 86
Saissetia hemisphaerica, Schwächeparasit an Kaffee. 359
*Salicylsäure und Verbindungen, fungizide Wirkung auf Tilletia tritici. 258
Salix s. Weide.
Salmonella Schottmülleri, Beweglichkeit. 344
Salpingogaster nigra, Parasit von Tomaspis postica. 378
Saltanten, Auftreten bei Bakterien. 78
Sauerstoff, Bedeutung für Entwicklung und Gärfähigkeit der Hefe. 86
Sauerteig, Vorkommen von Hansenula-Arten. 85
Salz, See-, Gewinnung, Anwendungsmöglichkeit von Algen. 358
Schabe, amerikanische, Biologie, Parasiten. 377
Schädlingsbekämpfung durch Flugzeuge in U.S.A. 286
*Schafmist, Pilzflora. 98
*—, Verbreitung der Nitrifikationsbakterien. 205
Schaumzikade des Zuckerrohrs (Tomaspis postica), Parasiten. 378
Schildläuse, Gewöhnung an Gifte. 372
—, Schädigung von Juniperus. 370
—, Schwächeparasiten an Kaffee. 359
Schlamm, Klär-, Umwandlung in Düngemittel, Herstellungsverfahren. 283
—, vulkanischer, anaerobe Mikroflora. 451
Schnecke, Lungen-, Zwischenwirt für Ostiolum oxyorchis. 189
—, Wasser-, Befall durch Zuckmückenlarven. 190
Schneeschimmel auf Golfplätzen, Bekämpfung. 458
Schwefel, Oxydation, biologische, im Boden. 449
—, Schädigung der Pollenkeimung. 361
Schwefelbakterien, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 168
Schwefeldioxyd, Farbfehler an Butter durch —. 84
Schwefelkalkbrühe, Apfelschorfbekämpfung. 453
—, Verminderung des Fruchtansatzes bei Blütenspritzung. 361
Schwefelkohlenstoff als Bodendesinfektionsmittel. 284
— - Emulsion, Bekämpfung von Wurzelknöllchennematoden. 186
Schwarzrost, Weizen-, Ernteschäden. 360
Schwarzwurzel, Wurzelkropf (Bacterium tumefaciens). 367
Sciara fenestralis, Schädigung von Champignonkulturen. 369
Sciropphaga auriflua, unterschiedlicher Befall der Zuckerrohrsorten. 184
Sclerophoma pityophila, endogene Konidienbildung. 287
Sclerotinia gladioli, Trockenfäule an Gladiolen und ähnlichen Liliaceen. 456
— trifoliorum, Fehlstellen auf Kleefeldern. 457
Sclerotium-Arten, Schädigung von Gramineen. 366
Sclerotium cepivorum, Mehlkrankheit der Zwiebeln. 366
Scolytus (Ulmensplintkäfer), Befall durch Beauveria Bassiana. 463
Seegras, Verschwinden in den letzten Jahren. 361
Sellerie, Blattfleckenkrankheit (Septoria apii) und Kalimangel. 363

Sellerie, Schorf, Bekämpfung durch Uspulun und Formaldehyd. 363
Senf, ätherisches Öl, antiseptische Eigenschaften. 384
Septoria apiicola, Blattfleckenkrankheit des Selleries, Wirkung von Kalimangel. 363
— piricola, Weißfleckenkrankheit der Birnenblätter, starkes Auftreten. 363
— tritici, physiologische Form auf Hafer. 456
Siebröhrenkrankheit des Kaffeebaumes. 181
Silos, Getreide-, Schädlingsbekämpfung. 188
Sirex gigas, Pilzsymbionten in Larven. 381
Siriciden, Pilzsymbionten in Larven. 381
Sminthurus viridis, Eientwicklung, Einfluß von Umweltsfaktoren. 374
— —, geographische Verbreitung, Einfluß von Temperatur und Feuchtigkeit. 373
Soja, Froschaugenflecke (Cercospora diazu). 462
—, Mikroflora, Bedeutung für technische Verwertung. 279
—, Rohstoff für „künstliche Fleischnährböden", Herstellungsverfahren. 435
Sojamilch, Milchsäure-Alkohol-Gärung. 280
Solanum-Arten, Schädigung durch Peronospora nicotianae in U.S.A. 455
*Sordaria fimicola, Vorkommen in Haustiermist. 109
Sorghum, Schädigung durch Tolyposporium filiferum. 365
Sphaerita, Parasit von Trichonympha agilis. 378
Sphaeropsideen, Bau und Konidienbildung. 287
*Sphaerotilus natans, Aufwuchs in schwefelwasserstoffhaltigem Wasser. 130
Spinnmilben, Schwächeparasiten an Kaffee. 359
Spirochaeta cytophaga, biologische Phasen, physiologische Eigenschaften. 91
— —, Zellulosezersetzung im Boden des Kaspischen Meeres. 169
— —, —, Klebrigkeit. 90
*Sporormia-Arten, Vorkommen in Haustiermist. 109
Stärke, Gewinnung im Sauerverfahren. 280
Stagonospora curtissii, Blattbrand an Narzisse. 180
Stallmist, Aufbewahrung und Bakteriengehalt. 280
—, Mikroflora, anaerobe. 90
*—, verschiedene Sorten, Verbreitung der Nitrifikationsbakterien. 193
Staphylococcus aureus, Peptonverwertung durch —. 79
Staphylokokken, Agglutination durch Säugetierplasma. 440
Staphylokokken, Tötung durch ätherische Öle. 384
—, Zellophanagarkulturen. 346
Steinkohle, Umwandlung in Düngemittel, Herstellungsverfahren. 282
Stengelbrand des Tabaks durch Pythium-Arten. 461
Sterilisation, Kalt-, Wesen, Entwicklungsgeschichte. 447
Stickstoffbindung bei Lolium perenne durch endophyten Pilz. 380
— durch Azotobacter, Zwischenproduktnachweis. 272
*— im Boden, Einfluß von Glukose. 385
*— — —, Keimzahlbestimmung von Azotobacter. 289
— — Meere. 284
— in verrottendem Stroh durch Azotobacter. 281
Stockälchen, Schädigung von Iris-Arten. 371
Streifenkrankheit der Gerste, Infektionsbedingungen, Temperatureinfluß. 455
Strahlen des menschlichen Körpers, Abtötung von Hefe. 380
—, mitogenetische, Einfluß ätherischer Öle, Vermeidung. 275
—, —, Nachweis durch beschleunigtes Bakterienwachstum. 379
—, —, — — Hefesprossung. 379
—, Röntgen-, Einfluß auf Phycomyces, Abhängigkeit von Besäungsdichte. 276
—, ultraviolette, Einfluß auf Phycomyces, Abhängigkeit von Besäungsdichte. 276
Streptobakterien, Flora von Rinderfaeces. 444
Streptococcus agalactiae, Glukosezusatz zur Brownschen Blutplatte. 173
— mesenterioides, Identität mit Speichelstreptokokken. 345
— viridans, Variabilitätsstudien. 79
Streptokokken, Entwicklungsstadium von Pneumokokken. 345
—, Flora von Rinderfaeces. 443
—, Froschlaich-, Identität mit Speichelstreptokokken. 345
—, Galt-, Bekämpfungsversuche. 278
—, Speichel-, Identität mit Froschlaichstreptokokken. 345
—, thermophile, Bildung von Acetoin und Diacetyl in Magenlabkulturen. 446
—, Variabilitätsstudien. 79
—, Verhinderung von Milchsäuerung. 445
*Stropharia stercoraria, Vorkommen in Haustiermist. 109
*Stysanus-Arten, Vorkommen in Haustiermist. 109
Sublimat, Kohlfliegenbekämpfung, Wirtschaftlichkeit. 188
Symbiose, Bakterien-, bei Rüsselkäfern und Kleiderläusen. 191
—, Pilz-, holzfressender Insektenlarven. 381

Tabak, Blaufäule (Peronospora nicotianae) in U.S.A. 454
—, Gelbmosaikvirus, Infektionsversuche. 368
—, Keimlingskrankheit durch Pythium aphanidermatum in Ostjava. 463
—, Krankheiten, Bericht der Deli-Versuchsstation. 453
—, Mosaikkrankheit, Bekämpfung. 181
—, —, Ertrags- und Wertminderung. 181
—, —, thermale Tötungspunkte des Virus. 181
—, Rhizoctonia- und Phytophthora-Befall. 454
—, Stengelbrand durch Pythium-Arten. 461
—, Viruskrankheit, komplexe. 367
*Taubenmist, Pilzflora. 98
Tecoma curialis, Zersetzung des Holzes im Urwald. 452
Tephrosia Vogelii, Fischgiftpflanze in Deutsch-Ostafrika. 384
Terminalia chebula, Vorkommen von Mastigomyces Philippovi an Früchten. 83
Termiten, Trichonympha - Vorkommen, Monographie, neue Arten. 378
—, Vergesellschaftung mit Pilzen, beziehungslose. 192
Terpur als Bodendesinfektionsmittel. 284
Tetrakokken, Flora von Rinderfaeces. 443
Tetrastichus bruchophagi, Parasit von Bruchophagus gibbus. 370
— hagenowi, Parasit der amerikanischen Schabe. 377
*Thamnidium elegans, Vorkommen in Haustiermist. 108
*Thermobacterium bulgaricum, Volutinnachweis in lebenden Zellen. 426
*— helveticum, Entwicklungszyklus. 68
*Thermostat für Kühlung und Heizung. 336
Thiobacillus-Art, Beschreibung, Schwefeloxydation im Boden. 450
Thiobacillus-Arten, Vorkommen im Boden des Kaspischen Meeres. 168
Thiosulfat, Reduzierung durch Hefe. 274
*Tilletia tritici, Wirkung von Salicylsäure und deren Verbindungen auf Sporen. 258
Tolyposporium filiferum, Schädigung von Sorghum-Hirse. 365
Tomaspis postica, Parasiten. 378
Tomate, Fleckenkrankheit durch Bacterium punctulans n. sp., Diagnose. 367
—, Gelbmosaikvirus von Tabak, Übertragung. 368
—, Krankheiten. 286
—, — der Früchte. 179
—, Schädigung durch Didymella lycopersici. 364
—, — — Peronospora nicotianae in U.S.A. 455
*Torf, aerobe Zersetzung, Azotobakter-Vermehrung. 154
—, Umwandlung in Düngemittel, Herstellungsverfahren. 282
Torulopsis-Arten, Zerstörung von Viskosefabrikaten. 358
Tradescantia, hundert Jahre Forschung an —. 78
Trematoden, Eingeweidewürmer der Fische, Fauna des Baltikums. 377
—, Vorkommen von Ostiolum oxyorchis in Froschlunge, Entwicklungszyklus. 189
*Trichocladium asperum, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 40
Trichoderma - Arten, Vergesellschaftung mit Termiten, beziehungslose. 192
*Trichoderma Koningi, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 38
*— lignorum, Zellulosezersetzung in Waldstreu. 38
Trichogramma, biologische Bekämpfung von Diatraea saccharalis an Zuckerrohr. 186
Trichomonas, Vorkommen in Ratten. 189
Trichonympha-Arten, Termitenparasiten, Monographie, neue Arten. 378
*Trichothecium-Arten, Vorkommen in Haustiermist. 109
Trifolium s. a. Klee.
— alexandrinum, Fehlen der Knöllchenbakterien im Boden, Impfung. 354
Tritonia crocosmaeflora, Trockenfäule durch Sclerotinia gladioli. 456
Trixagus dermestoides, Bakteriensymbionten. 192
Tylenchus dipsaci, Heißwasserbehandlung von Narzissenzwiebeln. 182
— —, Schädigung von Iris-Arten. 371
Typhula trifolii, Fehlstellen auf Kleefeldern. 457
Typhusbakterien, Hämolysebefähigung. 439
—, Wandlungsfähigkeit, Abspaltung von Gelbstämmen. 81

Ulme, Blattfleckenkrankheit durch Gnomonia- und Gloeosporium-Arten, Bekämpfung. 463
—, Graphium-Befall und Frostschaden. 363
Ulmensterben, Infektionsversuche, unterschiedliche Anfälligkeit. 463
Unsterblichkeit der Zelle. 382
Uredo ericae, Erikenrost, Bekämpfung. 364
Uropyxis sanguinea, Mahonienrost, Biologie. 364
Uspulun als Bodendesinfektionsmittel. 284
—, Bekämpfung des Sellerieschorfs. 363

Variabilität von Bakterienarten. 78, 79, 80

*Vaucheriatuffe, Untersuchungen. 150
Venturia inaequalis, Rassenbildung, Infektionsversuche in U.S.A. 455
Vibrio thermodesulfuricans, Vorkommen in vulkanischem Schlamm. 452
Vigna sinensis, Knöllchenbakterien, Untersuchungen. 439
— —, Nematodenbefall und Wurzelentwicklung. 182
Virus, filtrierbares, Natur, Parallele zu Bakterien. 349
Viruskrankheit, komplexe, an Tabak. 367
Viruskrankheiten an Kartoffel, Infektionsversuche. 368
— — Tabak, Infektionsversuche. 368
—, pflanzliche, Handbuch. 170
Viskosefabrikate, Zerstörung durch Mikroorganismen. 358
Vitamine, Bedeutung für Bakterienwachstum. 81
*Volutin, Nachweis in lebenden Hefezellen. 425

*Waldstreu, mikrobiologische Zersetzung. 28
Walnuß, Schwarzfäule durch Phytophthora cambivora. 367
Wasser, Ab-, biologische Reinigung. 356, 357
—, bakteriologische Schnelluntersuchung. 269
—, Brunnen-, Desinfektion durch Chlorkalk und Caporit. 355
—, Entkeimung durch Oberflächenwirkung kristalliner Metalle. 94
—, Gebrauchs-, Versorgung von Molkereien u. dgl. 355
—, Gerbereiab-, Mikroorganismengehalt, biologische Reinigung. 357
—, Keimzahlbestimmung durch Membranfilter. 173
—, Meer- und Süß-, Bakterienflora. 356
—, Mikroflora, Untersuchungsmethode. 451
—, Oberflächen-, Reinigungsverfahren. 357
—, Reinigung durch Aktiv-Kohlen. 356
—, See-, Stickstoffbindung, Bakterienflora. 284
*—, Sphaerotilus-Aufwuchs. 130
Wassergas, Umwandlung in Leuchtgas, biologische Entgiftung. 452
Wassermelone, Mosaikkrankheit. 181
Wasserschnecke, Befall durch Zuckmückenlarven. 190
Wasserstoffionenkonzentration, Bedeutung bei der Bierbereitung. 87
Weide, Krebs (Discella carbonacea) und Zweigdürre (Physalospora salicis). 462
Wein, Blaufleckigkeit der Beeren, physiologische Ursache. 362
Weizen, Mikroflora des Korns, CO_2-Einfluß. 440
—, Rost, Immunitätszüchtung. 459
—, Sclerotium-Krankheiten. 366
Wollhandkrabbe, chinesische, Monographie. 383

Xestobium rufovillosum, Pilzsymbionten in Larven. 381
Xyloterus lineatus, Biologie, Morphologie, Vorkommen in Sägewerken. 184

Zecken, symbiontische Einrichtungen. 382
Zelle, Unsterblichkeit. 382
*Zellulosezersetzung, aerobe. 33
—, anaerobe. 90
—, —, im Boden des Kaspischen Meeres. 169
—, —, in vulkanischem Schlamm. 451
*—, — und thermophile. 32
— durch Plectridium cellulolyticum, Isolierung aus Rinderpansen. 440
— — thermophile Bakterien. 439
—, Klebrigkeit. 90
*—, mikrobiologische, der Waldstreu. 29
*Ziegenmist, Pilzflora. 98
Zikaden, Schaum-, des Zuckerrohrs, Parasiten. 378
*Ziliaten, Fauna des Bodens, Nährmedien zur Züchtung. 250
*Zitronensäure, Bildung durch Penicillium javanicum. 411
—, Herstellung aus Fruchtsäften durch Gärverfahren. 271
—, — durch Kohlehydratvergärung. 270
—, Herstellungsverfahren mittels Schimmelpilzen. 438
Zootermopsis angusticollis, Vergesellschaftung mit Pilzen, beziehungslose. 192
Zostera marina, Verschwinden in den letzten Jahren. 361
Zucker, biologische Analyse. 173
—, Gärung und Hydrolyse der Kohlehydrate. 383
—, Rohr-, enzymatische Spaltung. 349
Zuckerrohr, Befall durch Schaumzikaden, natürliche Feinde. 378
—, biologische Bekämpfung von Diatraea saccharalis. 186
—, unterschiedlicher Befall durch Scirpophaga auriflua. 184
Zuckmückenlarven, parasitisch in Wasserschnecken. 190
Zwiebel, ätherisches Öl, antiseptische Eigenschaften. 384
—, Mehlkrankheit (Sclerotium cepivorum). 366
—, Speise-, Fäule durch Aspergillus alliaceus. 455

Fürstl. priv. Hofbuchdruckerei (F. Mitzlaff) Rudolstadt

I. A. R. I. 75.

IMPERIAL AGRICULTURAL RESEARCH
INSTITUTE LIBRARY
NEW DELHI.

Date of issue.	Date of issue.	Date of issue.
21 JUN 1955		
28.6.60		
6 JUN 1972		